

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALINE ROSSETTO DA LUZ

**CARACTERIZAÇÕES DE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO MODIFICADAS
ANODICAMENTE PARA APLICAÇÃO BIOMÉDICA**

**CURITIBA
2013**

ALINE ROSSETTO DA LUZ

**CARACTERIZAÇÕES DE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO MODIFICADAS
ANODICAMENTE PARA APLICAÇÃO BIOMÉDICA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção de grau de Mestre. Área de concentração: Engenharia e Ciência dos Materiais, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais - PIPE. Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eugênio Foerster
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Neide Kazue Kuromoto

**CURITIBA
2013**

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Carlos Eugênio Foerster. Pela sua dedicação na condição de orientador para o desenvolvimento deste trabalho.

A Prof.^a Dr^a. Neide Kazue Kuromoto. Que foi a segunda orientadora deste trabalho, pela amizade e incentivo para realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Maurício Lepienski. Pela utilização do Laboratório de Propriedades Nanomecânicas - LabNano, e participação nas bancas de qualificação e defesa.

A Ms. Sara Blunk por realizar os ensaios de nanoindentação no Laboratório de Propriedades Nanomecânicas - LabNano

Ao Prof. Dr. Gelson Biscaia de Souza. Por ter cedido gentilmente os dados de nanoindentação de referência do titânio polido, e participação na banca de defesa.

A UEPG pela utilização dos equipamentos do Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-LABMU), e a seus técnicos Ms. André Assmann, Ms. Nilson Biagini Sabino e Simone Ferraz Sabino; que realizaram as medidas de espectroscopia Raman, difração de raios-X e espectroscopia no Infravermelho, respectivamente.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR. Pela colaboração e disponibilidade na utilização do microscópio eletrônico de varredura.

Ao Prof. Dr. Paulo César Soares Júnior, por disponibilizar a utilização LaCEM – Laboratório de Caracterização e Ensaios de Materiais da PUC-PR, onde foram realizados os primeiros ensaios experimentais.

Ao Prof.Dr. Vitoldo Swinka Filho pela participação na banca de qualificação.

Aos alunos de iniciação científica Bruno Leandro Pereira e Karly Yomiko Cruz Saico, que contribuíram e ajudaram para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Ms. Fábio Adhemar da Silva Rahal, pelo auxílio em diversos ensaios experimentais.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Aos meus pais Luiz e Ireni, a meu irmão Gustavo, a minha irmã Andréa, a meu marido Fábio, a todos os meus familiares e amigos que cuidaram de mim quando mais precisei. Não permitindo que desistisse de viver e processeguisse com minha rotina e demais atividades; incluindo esta etapa acadêmica.

Muito obrigada!

RESUMO

O titânio (Ti) e suas ligas são utilizados para a fabricação de próteses dentárias e ortopédicas. A deposição de filmes ou modificação da superfície nestes biomateriais pode ser empregada para obter ou melhorar as características químicas e físicas sem alterar as de volume. Neste trabalho camadas de óxido de titânio foram produzidas em Ti comercial com a técnica de anodização, utilizando uma mistura de ácidos H_2SO_4 e H_3PO_4 (ambos 1 M) como eletrólito nas proporções de volume: (a) 1 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 ; (b) 1 H_2SO_4 : 1 H_3PO_4 (c) 1 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 . As oxidações foram realizadas em temperatura ambiente utilizando como contra eletrodo uma barra de Ti a 180 V durante 60s. Após a anodização as amostras foram submetidas a tratamento térmico a 600°C/1h. Foram realizados ensaios de bioatividade *in vitro* nas amostras oxidadas e com tratamento térmico em solução simuladora de fluido corpóreo por um período de imersão de 30 dias. A morfologia das camadas de óxidos foi analisada por microscopia eletrônica de varredura – MEV. A formação das fases de óxidos foi acompanhada por Difração de Raios-X – DRX e Espectroscopia micro-Raman. A dureza e o módulo de elasticidade foram obtidos por indentação instrumentada segundo o método de Oliver-Pharr. A morfologia superficial revelou a formação de óxidos de Ti porosos e interconectados, independentemente da mistura de eletrólito. A DRX e espectroscopia micro-Raman revelaram formação da fase anatásio e indicativos da fase rutilo devido ao processo anódico. Os ensaios de indentação instrumentada mostraram que em relação ao Ti polido existe um aumento nos valores de dureza, mas não há alterações significativas no módulo de elasticidade. A eficiência de bioatividade foi analisada através de MEV, EDS, DRX, espectroscopias micro-Raman e Infravermelho, após a imersão das amostras em “Simulated Body Fluid” (SBF) durante trinta dias. Os resultados indicaram que as superfícies são bioativas, através da presença de uma camada de hidroxiapatita recobrindo a superfície em todas as condições de anodização.

Palavras-chave: Biomateriais. Oxidação anódica. Espectroscopia Vibracional. Propriedades Mecânicas.

ABSTRACT

Titanium (Ti) and its alloys are used for manufacturing orthopedic and dental prostheses. Film deposition or surface modification of these biomaterials can be used to obtain or to improve the chemical and physical characteristics without changing the bulk properties. In present work titanium oxide films were produced on commercial Ti by anodization technique using a mixture of H_2SO_4 and H_3PO_4 acids (both 1M) as electrolyte in following proportions: (a) 1.0 H_2SO_4 : 0.5 H_3PO_4 ; (b) 1.0 H_2SO_4 : 1.0 H_3PO_4 and (c) 1.0 H_2SO_4 :1.5 H_3PO_4 . The anodic oxidations were carried out at room temperature using a titanium counter electrode at 180V during 60s. After the anodization, the samples were subjected to heat treatment at 600 ° C/1h. In vitro bioactivity tests were performed in the samples heat treated and oxidized using simulated body fluid solution during a period of 30 days. The morphology of the oxide films was analyzed by scanning electron microscopy (SEM). The formation of oxide phases was monitored by X-Ray Diffraction (XRD) and Raman spectroscopy. The hardness and elastic modulus were obtained by instrumented indentation by the method of Oliver-Pharr. Surface morphology reveals the formation of porous and interconnected oxides of Ti irrespective of the mixture of electrolyte. The XRD and Raman spectroscopy revealed formation of anatase and rutile phases due to the anodic process. The instrumented indentation tests showed that compared to the Ti polished there is an increase in hardness, but no significant changes in modulus of elasticity. The efficiency of bioactivity was analyzed by SEM, EDS, XRD, Raman and Infrared, after immersion of samples in "Simulated Body Fluid" (SBF) for thirty days. The results indicated that the surfaces are bioactive, due to the presence of a hydroxyapatite layer, coating the surface under all conditions of anodization.

Keywords: Biomaterials. Anodic Oxidation. Vibrational Spectroscopy. Mechanical Properties.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Fase do TiO_2 : rutilio (a) e anatásio (b). As esferas vermelhas representam íons de Ti e as esferas cinzas são os íons de oxigênio -----	25
Figura 2 -	Esquema de uma célula eletroquímica utilizada para a oxidação anódica -----	27
Figura 3 -	Diagrama esquemático de formação poroso de óxido de titânio sob ruptura dielétrica: (A) o crescimento de óxido de espessura máxima, (B) óxido de ruptura através da formação de cristalitos (formação de poros), (C) repassivação imediata de pontas de poros, (D) de ruptura de óxido repassivação, e (E) a dissolução de o óxido formado e segunda repassivação -----	30
Figura 4 -	Representação esquemática de Jaeggi et al. (2012) para o estado de crescimento inicial de óxidos anódicos produzido em (a) ácido sulfúrico e (b) ácido fosfórico, cristalinidade correlacionado ao eletrólito -----	33
Figura 5 -	Principais componentes do MEV -----	38
Figura 6 -	Representação esquemática dos diversos estágios da solidificação de um material policristalino: (a) nucleação dos cristais, (b) crescimento dos cristalitos (c) formação dos grãos (d) estrutura dos grãos no microscópio óptico -----	40
Figura 7 -	Esquema da difração de Bragg -----	41
Figura 8 -	Ilustração da excitação de vibrações moleculares em espectroscopias IV (superior) e Raman (abaixo) -----	43
Figura 9 -	Ilustração esquemática de indentação de carga-deslocamento de dados mostrando importantes parâmetros medidos -----	46
Figura 10 -	Ilustração esquemática do processo de descarga mostrando os parâmetros que caracterizam a geometria de contato -----	47
Figura 11 -	(a) aparato experimental utilizado para anodização do Ti-cp (b) detalhes da cuba eletrolítica de acrílico (c) dimensões da amostra de Ti antes e após a oxidação -----	50
Figura 12 -	Gráfico representativo de tensão versus tempo para a oxidação anódica na condição $1,0 \text{ H}_2\text{SO}_4$; $0,5 \text{ H}_3\text{PO}_4$ -----	53
Figura 13 -	Variação da corrente em função do tempo -----	54
Figura 14 -	(a) tubos falcon com amostras e SBF (b) incubadora -----	59

Figura 15 -	Modelo representativo do procedimento utilizado nas medidas do perfil de profundidade. As medidas em profundidade correspondem a distância focal da superfície 0 μm até 10 μm -----	60
Figura 16 -	MEV Morfologia: titânio lixado -----	61
Figura 17 -	MEV Morfologia: (a) amostra de titânio lixado, amostras oxidadas e com tratamento térmico com aumento de 500 X e detalhes em 3000 X (b) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (c) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (d) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 -----	62
Figura 18 -	Espectros EDS das amostras oxidadas e com tratamento térmico (a) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (b) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (c) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 -----	64
Figura 19 -	Espectros infravermelho: identificação dos grupos funcionais presentes nas amostras oxidadas e com tratamento térmico -----	65
Figura 20 -	Perfis da superfície: (a) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (b) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (c) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 (d) Ti polido -----	67
Figura 21 -	Difratograma de Raios-X: (a) titânio grau 2 polido, (b) pastilha de rutilio, (c) pastilha de rutilio com anatásio. Sendo: Ti = titânio, A = anatásio, R = rutilio -----	79
Figura 22 -	(A) Difratograma de Raios-X θ -2 θ , (B) Geometria com ângulo rasante $\theta = 1,5^\circ$. Para ambas configurações: Oxidação (a) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (b) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (c) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 , oxidação e tratamento térmico (d) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (e) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (f) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 . Sendo: Ti = titânio, A = anatásio, R = rutilio -----	70
Figura 23 -	Espectros micro-Raman: (a) referência óxidos de Ti (b) amostras oxidadas com TT. Sendo: A = anatásio e R = rutilio -----	74
Figura 24 -	Imagens (MEV) da impressão de nanoindentação (a) Ti-cp, camadas anódicas (b) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (c) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (d) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 . As seta indicam as trincas nos filmes de óxidos de TiO_2 -----	76
Figura 25 -	(a) Dureza, (b) módulo de elasticidade no Ti-cp e nas camadas anódicas tratadas termicamente -----	78
Figura 26 -	Imagens MEV indicando precipitados de HA após 30 dias em solução SBF para condição 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 , em diferentes magnificações (a) 500 X e detalhe do EDS correspondente à imagem (b) 1000 X (d) 3000 X (e) 15000 X -----	80
Figura 27 -	Imagens MEV indicando precipitados de HA após 30 dias em solução SBF para condição 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 , em diferentes magnificações (a) 500 X e detalhe do EDS correspondente à imagem (b) 1000 X (d) 3000 X (e) 15000 X -----	81

Figura 28 -	Imagens MEV indicando precipitados de HA após 30 dias em solução SBF para condição 1,0 H ₂ SO ₄ : 1,5 H ₃ PO ₄ , em diferentes magnificações (a) 500 X e detalhe do EDS correspondente à imagem (b) 1000 X (d) 3000 X (e) 15000 X -----	82
Figura 29 -	Difratogramas DRX: padrões de referência HA -----	86
Figura 30 -	Difratogramas de DRX após os ensaios de bioatividade de 30 dias (A) Geometria θ -2 θ , (B) Geometria com ângulo rasante θ = 1,5°. Para ambas configurações: (a) 1,0 H ₂ SO ₄ : 0,5 H ₃ PO ₄ (b) 1,0 H ₂ SO ₄ : 1,0 H ₃ PO ₄ (c) 1,0 H ₂ SO ₄ : 1,5 H ₃ PO ₄ Sendo: Ti = titânio, A = anatásio, R = rutílio, HA = hidroxiapatita-----	88
Figura 31 -	Espectros para HA referência: (a) micro-Raman (b) Infravermelho	89
Figura 32 -	Espectros micro-Raman das superfícies de titânio oxidadas e com tratamento térmico nas três condições das misturas dos ácidos, após os ensaios de bioatividade -----	90
Figura 33 -	Espectros IV das superfícies de titânio oxidadas e com tratamento térmico nas três condições das misturas dos ácidos, após os ensaios de bioatividade de 30 dias -----	92
Figura 34-	(a) Perfil de Profundidade micro-Raman na condição 1,0 H ₂ SO ₄ : 1,5 H ₃ PO ₄ . Perfis de Profundidade micro-Raman em escala ampliada (b) 1,0 H ₂ SO ₄ : 0,5 H ₃ PO ₄ (c) 1,0 H ₂ SO ₄ : 1,0 H ₃ PO ₄ (d) 1,0 H ₂ SO ₄ : 1,5 H ₃ PO ₄ -----	94
Figura 35 -	Imagens (MEV) da impressão de nanoindentação das superfícies de titânio oxidadas nas três condições das misturas dos ácidos, após os ensaios de bioatividade de 30 dias: (a) 1,0 H ₂ SO ₄ : 0,5 H ₃ PO ₄ (b) 1,0 H ₂ SO ₄ : 1,0 H ₃ PO ₄ (c) 1,0 H ₂ SO ₄ : 1,5 H ₃ PO ₄ -----	95
Figura 36 -	Gráficos: (a) dureza e (b) módulo de elasticidade <i>versus</i> profundidade de contato para a camada de HA sobre os filmes anódicos -----	97
Figura 37 –	Oxidação sob 250V: (a) Imagem MEV da morfologia (b) Gráfico corrente em função do tempo (b) Espectro micro-Raman para óxidos de Ti (d) Digratograma de Raios-X para óxidos de Ti -----	111
Figura 38 -	Desprendimento do filme da oxidação e camada de Nb ₂ O ₅ -----	115
Figura 39 -	DRX do Nióbio metálico -----	116
Figura 40-	Oxidação do Nb com eletrólito NaOH (a) morfologia com magnificação 1000 X (b) EDS do filme anódico -----	116
Figura 41 -	(a) Oxidação do Nb com eletrólito H ₃ PO ₄ + HF 1% (b) Oxidação e tratamento térmico do Nb com eletrólito H ₃ PO ₄ + HF 1%, as setas indicam trincas e ruptura no filme (c) EDS do filme anódico -----	117

Figura 42 -	Oxidação TT 450°C com Na ₂ SO ₄ (a) morfologia aumento 500x (b) morfologia aumento 1000 x, as setas indicam trincas e ruptura no filme-----	118
Figura 43 -	Difratograma de Raios-X (θ -2 θ) do filme de óxido sobre o substrato Nb-----	119
Figura 44 -	Difratograma de Raios-X (rasante $\theta = 1,5^\circ$) do filme de óxido sobre o substrato Nb-----	119
Figura 45 -	Espectro micro-Raman do filme de óxido sobre o substrato Nb-----	120

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CONCENTRAÇÃO IÔNICA NOMINAL DO PLASMA SANGUÍNEO HUMANO E DA SOLUÇÃO SIMULADORA DO FLUÍDO CORPÓREO (SBF)-----	21
TABELA 2 - MODELOS GERAIS DAS ESTRUTURAS CRISTALINAS CCC E HEXAGONAL-----	24
TABELA 3 - PARÂMETROS EXPERIMENTAIS DE ALGUNS ESTUDOS DE ANODIZAÇÃO EM DIFERENTES ELETRÓLITOS-----	30
TABELA 4 - REAGENTES QUÍMICOS PARA PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO SBF ---	58
TABELA 5 - RUGOSIDADE DOS FILMES DE ÓXIDOS ANÓDICOS-----	68
TABELA 6 - MODOS E FREQUÊNCIAS DE VIBRAÇÃO RAMAN PARA AS AMOSTRAS DE REFERÊNCIA, AMOSTRAS OXIDADAS E LITERATURA-----	75
TABELA 7 - RAZÃO MOLAR Ca/P -----	84
TABELA 8 - ASSINATURAS E MODOS VIBRACIONAIS DA HA PARA AS ESPECTROSCOPIA RAMAN E IV -----	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	- anatásio
C	- carbono
Ca	- Cálcio
Co	- cobalto
Cr	- cromo
DRX	- Difração de Raios-X
E	- módulo de elasticidade
EDS	- Espectroscopia de raios-X por energia dispersiva
H	- dureza
HA	- hidroxiapatita
IV	- infravermelho
JCPDS	- <i>Joint Committee on Powder Diffraction Standards</i>
Ti	- titânio
TT	- Tratamento térmico
M	- molar
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
Mo	- molibdênio
Nb	- nióbio
OH	- radical hidroxila
P	- Fósforo
R	- rutílio
R _a	- rugosidade média
SBF	- Simulated Body Fluid
U	- tensão
V	- volts
u.a	- unidade arbitrária
XPS	- Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por raios-X

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 BIOMATERIAIS, BIOCOMPATIBILIDADE E BIOATIVIDADE	18
2.2 TITÂNIO E SEUS ÓXIDOS	23
2.3 OXIDAÇÃO ANÓDICA	26
2.4 TRATAMENTO TÉRMICO	34
2.5 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	37
2.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura	37
2.5.2 Microanálise de raios-X por espectroscopia de energia dispersiva	38
2.5.3 Difração de Raios-X	39
2.5.4 Espectroscopia Raman e Infravermelho	42
2.5.5 Indentação Instrumentada	45
3 MATERIAIS E MÉTODOS	49
3.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	49
3.2 OXIDAÇÃO ANÓDICA	50
3.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E MICROESTRUTURAL DAS AMOSTRAS	55
3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura e Microanálise de raios-X por espectroscopia de energia dispersiva	55
3.3.2 Espectroscopia Infravermelho	55
3.3.3 Difração de Raios-X	56
3.3.4 Espectroscopia micro-Raman	56
3.3.5 Determinação da espessura e rugosidade do filme	57
3.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS	58
3.5 BIOATIVIDADE	58
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	61
4.1 MORFOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA	61
4.2 ESPESSURA E RUGOSIDADE	67
4.3 FASES DOS ÓXIDOS DE TITÂNIO	69
4.3.1 Difração de Raios-X	69
4.3.2 Espectroscopia micro-Raman– Identificação das fases dos óxidos	73
4.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS	75
4.4.1 Análise das indentações nos filmes de óxidos de Ti	75
4.4.2 Dureza e Módulo de elasticidade dos filmes de óxidos de Ti	77
4.5 BIOATIVIDADE DAS CAMADAS DE ÓXIDOS DE TiO_2	80
4.5.1 Morfologia das camadas de hidroxiapatita	80
4.5.2 Difração de Raios-X para camada de hidroxiapatita	86
4.5.3 Espectroscopias micro-Raman e Infravermelho	89
4.5.4 Perfil de Profundidade micro-Raman	93
4.5.5 Propriedades mecânicas das camadas de HA	94
5 CONCLUSÕES	99
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	101
REFERÊNCIAS	102
ANEXO I - OXIDAÇÃO DO TITÂNIO SOB 250 V	111
ANEXO II - OXIDAÇÃO DO NIÓBIO	113
ANEXO III - APRESENTAÇÃO EM CONGRESSO	121

1. INTRODUÇÃO

Como outras partes do corpo humano, a estrutura óssea pode ser danificada e/ou enfraquecida pela idade, acidentes e patologias. Esses danos incluem as fraturas ósseas, dores lombares, osteoporose, escoliose e outros problemas do sistema músculo-esquelético (MINAGAR et al., 2012). Para o reparo destes danos pode-se fazer o uso de biomateriais, que quando implantados permitem recuperar a função perdida, promovendo uma melhor qualidade de vida ao paciente.

Diferentes biomateriais são usados para implantes, dentre eles polímeros, cerâmicas, metais e compósitos. Os implantes metálicos, devido às suas excelentes propriedades mecânicas, são considerados a melhor opção para a substituição de longo prazo, especialmente em aplicações de suporte de carga, tais como as articulações de joelho, de quadril e dentárias (FRAUCHIGER et al., 2004; GAMES et al., 2012; GRIGAL et al., 2012; MINAGAR et al., 2012).

O desenvolvimento e o uso de implantes estão presentes desde as antigas civilizações (RESENDE, 1994; HOBBO et al., 1997). Chaves, (2001) relata que no século XVI utilizavam-se placas de ouro na reparação do palato partido. Por volta de 1650 arames finos (ferro, bronze e ouro) eram usados em suturas. Entre os séculos XVIII - XIX implantes de bronze e ligas de ferro niquelado permitiam a fixação de parafusos aos ossos, no século XX iniciou-se a utilização de próteses de aço inoxidável. A partir 1936 ligas a base de Co-Cr-Mo-C passaram a ser utilizadas, e finalmente na década de sessenta tem-se a presença do titânio (Ti) em próteses.

A área de biomateriais é um campo com pouco mais de meio século de inovação e desenvolvimento. O sucesso dos biomateriais está relacionado às modernas terapias médicas e ao potencial econômico do mercado (RATNER & BRYANT, 2004). Entretanto, nos Estados Unidos a Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA - *Food and Drug Administration*) tem verificado altos índices de falhas e complicações em diversos tipos de próteses (GRIGAL et al., 2012). Assim, apesar de muitos dispositivos médicos serem implantados em

seres humanos todos os anos, ainda existe espaço para inovação e melhoria dos biomateriais.

Aspectos críticos relacionados à fabricação de implantes cirúrgicos correspondem à seleção do material, ao processo de fabricação, ao “design” e a biocompatibilidade. Este último depende de fatores como a composição química do material e a estrutura da superfície do implante, os quais determinarão o comportamento da interface entre o implante e o tecido (órgão) (OLIVEIRA, 2003).

Uma abordagem para alcançar uma boa funcionabilidade dos biomateriais metálicos é a modificação superficial destes com o intuito de minimizar a reação de rejeição do corpo estranho e promover a osseointegração (RATNER & BRYANT, 2004). Isso pode aumentar a eficácia e a durabilidade do implante, evitando novas cirurgias que, além de custosas, são traumatizantes e de alto risco para o paciente (OLIVEIRA, 2003).

O titânio e suas ligas são amplamente utilizados em dispositivos biomédicos metálicos devido a seu baixo módulo de elasticidade, quando comparados com outros metais, boa resistência à fadiga, fácil conformabilidade e usinagem, resistência à corrosão e biocompatibilidade (LIU et al., 2004). Algumas destas propriedades podem ser melhoradas utilizando-se filmes de óxidos de Ti na superfície do Ti e suas ligas, modificando-se a superfície do Ti por métodos físicos e químicos (HANAWA, 1999; SUL et al., 2002; LIU et al., 2004).

Tecnologias de modificação de superfície no Ti e suas ligas incluem tratamento mecânico, pulverização térmica, sol-gel, tratamento químico e eletroquímico, a implantação de íons, entre outros (SUL et al., 2002; GRIGAL et al., 2012). A anodização é uma técnica eletroquímica bastante utilizada para aumentar a bioatividade do Ti devido ao seu baixo custo e a obtenção de um filme na superfície do substrato. Podem ser utilizados diferentes eletrólitos com diferentes concentrações e condições elétricas variadas, que resultam em filmes de óxido de Ti com diferentes porosidades e rugosidades. A porosidade e a rugosidade são parâmetros importantes para a qualidade da

osseointegração dos implantes. As interfaces porosas aumentam a fixação através do crescimento de osso em direção ao revestimento, formando um embricamento mecânico.

No presente trabalho produziram-se camadas de óxido de titânio sobre substrato de titânio puro através da técnica de oxidação anódica, no modo potenciostático. Como eletrólitos foram utilizadas misturas de ácidos sulfúrico e fosfórico. A oxidação do Ti para aplicações biomédicas com estes eletrólitos (separados) está bem estabelecida na literatura, mas para a mistura dos ácidos foram localizados apenas os trabalhos de Park et al. (2005) e Lee et al. (2006).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é avaliar a eficiência da oxidação em superfícies Ti com misturas dos ácidos sulfúrico e fosfórico, visando à bioatividade. Serão analisadas três diferentes condições de anodização e realizados testes *in vitro*, em solução simuladora do fluido corpóreo, para avaliar a bioatividade das superfícies de Ti modificadas.

A caracterização das camadas de óxidos de titânio e de hidroxiapatita formadas após os testes de bioatividade "*in vitro*" foi realizada através das espectroscopias micro-Raman e Infravermelho, as quais são utilizadas por alguns pesquisadores da área de biomateriais. Os resultados foram corroborados com técnicas que são frequentemente utilizadas: difração de raios-X (DRX) e espectroscopia de raios-X por dispersão de energia (EDS). A morfologia foi observada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), e para avaliar as propriedades mecânicas foram realizados ensaios de nanoindentação.

Para relatar os resultados a dissertação está dividida em seis capítulos, sendo:

- Primeiro capítulo: uma introdução ao tema, bem como o problema que motivou esse trabalho e seu objetivo.
- Segundo capítulo: a revisão da bibliografia referente à biomateriais, biocompatibilidade e bioatividade, titânio, oxidação anódica, tratamento térmico e às técnicas de caracterização utilizadas (microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de raios-X por energia

dispersiva, difração de Raios-X, Espectroscopia micro-Raman e no Infravermelho, indentação instrumentada).

- Terceiro capítulo: materiais e métodos empregados no desenvolvimento desse trabalho. São expostos os procedimentos e condições para produção das modificações na superfície do Ti, e os parâmetros utilizados nas técnicas de caracterização.
- Quarto capítulo: apresentação dos resultados e discussões remetendo os objetivos deste trabalho.
- Quinto capítulo: são apresentadas as conclusões do trabalho.
- Sexto capítulo: apresentamos algumas sugestões para trabalhos futuros que possam ser realizados para dar continuidade a esse estudo.
- São apresentados dois anexos: o primeiro referente a uma condição de oxidação que não apresentou resultados viáveis para aplicações biomédicas, e o segundo anexo sobre estudos preliminares da anodização em superfícies de nióbio.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O presente capítulo tem por finalidade fazer uma breve descrição sobre biomateriais, biocompatibilidade, bioatividade, titânio, oxidação anódica e as técnicas de caracterização utilizadas neste trabalho (microscopia eletrônica de varredura – MEV, espectroscopia de raios-X por energia dispersiva - EDS, difração de raios-X – DRX, Espectroscopias micro-Raman e Infravermelho - IV, nanoindentação).

2.1 BIOMATERIAIS, BIOCOMPATIBILIDADE E BIOATIVIDADE

Biomateriais são a base de dispositivos para fazer a substituição total ou parcial de parte ou de uma função do corpo de forma segura, confiável, econômica e fisiologicamente aceitável (HENCH et al., 1982). Alguns exemplos destes materiais são as agulhas, cateteres, placas, próteses, lentes, enxertos, *stents*, tubos de circulação extra-corpórea e arcabouços (*scaffolds*) empregados na engenharia de tecidos (SOARES, 2005).

De acordo com Willians (1992) o desempenho dos biomateriais está relacionado com a biocompatibilidade, que é a habilidade de um material atuar com uma resposta apropriada no local da implantação, e com a biofuncionalidade, que corresponde aos principais requisitos que se exigem dos biomateriais utilizados em implantes ósseos; que são a transferência de carga mecânica entre osso/implante e o desgaste (WILLIANS, 1992).

Os materiais utilizados para a fabricação de dispositivos médicos podem ser classificados conforme a composição química em metais, cerâmicos e polímeros. Quanto ao tipo da resposta biológica que estes apresentam em relação aos tecidos, são classificados como biotolerante, bioinerte ou bioativo (RIGO et al., 1999).

A resposta típica do tecido ósseo com relação a materiais bioinertes e biotolerantes é a encapsulação do implante por uma camada de tecido fibroso, visto que não formam uma ligação química com o organismo receptor. Os bioativos permitem a formação de um novo osso e a troca de íons com o

tecido, conduzindo as ligações químicas na interface osso-implante, sem que ocorra o encapsulamento fibroso (RIGO et al., 1999).

Exemplos de materiais biotolerantes são: ouro, ligas Co-Cr, aço inoxidável, zircônio, nióbio, tântalo e polimetacrilato. Os bioinertes são as cerâmicas de alumina (Al_2O_3) de alta densidade, aço inoxidável, óxido de zircônio, carbono, nitreto de silício, óxidos de Ti, titânio e suas ligas. Para os bioativos têm-se: a hidroxiapatita, tricálcio fosfato, tetracálcio fosfato, pirofosfato de cálcio, fluorapatita, brushita, carbono vítreo, carbono-silício e biovidros (RIGO et al., 1999).

O Ti e as suas ligas são utilizados como materiais de implante ortopédicos e dentários devido as suas propriedades mecânicas, adequadas para a substituição de tecido duro, sua excelente resistência à corrosão e biocompatibilidade conferidas pelo filme natural de óxido. No entanto são materiais bioinertes frente ao tecido ósseo (FRAUCHIGER et al., 2004; LEE et al., 2006; CUI et al., 2009; GAMES et al., 2012). Isto significa que o osso não cresce diretamente em superfícies de Ti, a menos que sejam tratadas para tal finalidade (LINDBERG et al., 2008).

O crescimento ósseo é um processo lento quando comparado com períodos de cicatrização solicitados para implantes, e a eficácia dos implantes requer a osseointegração entre o material e do tecido ósseo. Portanto, uma fixação desfavorável com o osso afeta a vida do implante. Assim, torna-se necessária a utilização de técnicas de modificação de superfície para melhorar a atividade biológica destes materiais e favorecer a integração óssea (CUI et al., 2009; POPA et al., 2011; GRIGAL et al., 2012).

Conforme Francischone & Vasconcelos (1998) foi Brånemark que introduziu o termo osseointegração para definir a conexão direta, estrutural e funcional, entre o osso e a superfície de um implante capaz de receber carga funcional.

As interações entre o biomaterial e o fluido biológico ocorrerem na interface e dependem de características da superfície como fatores químicos e

a rugosidade/topografia (POPA et al., 2011), que como consequência levará ou não a osseointegração.

Para testar a bioatividade dos biomateriais podem ser realizados testes *in vitro* usando uma solução que simula a parte inorgânica do fluido corpóreo. Em 1991, KOKUBO desenvolveu uma solução simuladora do fluido corpóreo, SBF (*Simulated Body Fluid*), que reproduz a concentração iônica do plasma sanguíneo, ou seja, a porção acelular do tecido sanguíneo. Outros autores também propuseram soluções de SBF modificadas (ANDRADE, 1999; JONÁSOVÁ et al., 2004, MÜLLER & MÜLLER, 2006; RESENDE et al., 2008).

KOKUBO (1991) propôs que o requisito básico para um material se ligar a um “osso vivo” (osseointegração) é a formação de uma camada de apatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) em sua superfície. Mais ainda, que essa formação de apatita *in vivo* pode ser reproduzida em uma solução SBF. Isso significa que a bioatividade *in vivo* de um implante pode ser prevista pela formação da apatita na superfície do biomaterial quando imerso em SBF (KOKUBO & TAKADAMA, 2006; UCHIDA et al., 2002, GAO et al., 2012).

No entanto, estudos recentes indicam que o processo de osseointegração depende das propriedades da superfície do biomaterial (topografia, rugosidade, composição química, cargas da superfície, energia superficial e molhabilidade). O contato das células com a superfície do implante e a adesão celular à superfície varia com a molhabilidade da superfície do implante e esta influencia o comportamento das células. Contudo, a adesão celular à superfície de implantes não é suficiente para garantir a osseointegração. As células devem receber alguns sinais ou informações para induzi-las a diferenciar e proliferar. Neste sistema, as características da superfície do material são importantes. A topografia do implante, a energia de superfície e a composição química desempenham um papel essencial na adesão celular em implantes dentários, especialmente em termos de adesão de osteoblastos. Assim, adsorção, adesão e espalhamento são as primeiras fases de interação entre a célula e o biomaterial. A qualidade desta primeira fase irá influenciar na capacidade das células em contato com o material, em proliferarem e diferenciarem (ELIAS et al., 2012).

Na tabela 1 consta uma comparação entre a concentração de íons presentes na solução SBF (desenvolvida por Kokubo et al., 2006) e no plasma sanguíneo. A única diferença entre as concentrações dos íons no plasma sanguíneo e no SBF está na concentração do íon HCO_3^- .

Esta diferença favorece a nucleação de hidroxiapatita, pois o carbonato de cálcio tem uma forte tendência a precipitar-se a partir deste SBF, uma vez que é supersaturada no que diz respeito não só a apatita, mas também a calcita (KOKUBO & TAKADAMA, 2006).

TABELA 1 - CONCENTRAÇÃO IÔNICA NOMINAL DO PLASMA SANGUÍNEO HUMANO E DA SOLUÇÃO SIMULADORA DO FLUÍDO CORPÓREO - SBF

Íon	Concentração (10^{-3} mol/L)	
	SBF	Plasma sanguíneo
Na^+	142	142
K^+	5	5
Mg^{2+}	1,5	1,5
Ca^{2+}	2,5	2,5
Cl^-	103	103
HCO_3^-	4,2	27
HPO_4^{2-}	1,0	1,0
SO_4^{2-}	0,5	0,5
pH final	7,4	7,20 - 7,40

FONTE: ADAPTADO DE KOKUBO & TAKADAMA 2006.

A hidroxiapatita (HA) faz parte do grupo de fosfatos de cálcio. Uma forma de classificar estes fosfatos é através da razão atômica entre os átomos de cálcio e fósforo (Ca/P), que varia de 0,5 a 2,0. Para a hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) a razão Ca/P corresponde a 1,67 (COSTA et al., 2009).

Além de ser considerada a fase mais estável em ambiente fisiológico, sendo, portanto, o componente principal do mineral ósseo, a HA possui propriedades bioativas. Dessa forma, ela é capaz de estabelecer ligações de natureza química com o tecido ósseo (bioatividade), permitindo a proliferação das células ósseas (osteoblastos, fibroblastos e outras), as quais não a

distinguem da superfície óssea natural, o que indica a grande similaridade química (JARCHO, 1992).

Tem sido proposto que a formação de apatita sobre filmes óxidos anódicos de Ti (que serão apresentados na seção 2.2) é induzida pelos grupos Ti -OH na sua superfície, indicado que um grande número de grupos Ti -OH são essenciais para a indução de nucleação de HA (UCHIDA et al., 2002; CUI et al., 2009, ZHAO et al., 2010). A interação eletrostática entre os íons de cargas opostas é um dos mecanismos no processo de nucleação de apatita. Os íons OH^- da superfície do substrato atraem os íons Ca^{2+} do SBF e são adsorvidos na superfície de titânio de maneira que a superfície fica positivamente carregada. Esta carga positiva atrai os íons negativos de fosfato (PO_4^{2-}), finalmente levando à nucleação de apatita. Uma vez nucleada, a HA pode crescer espontaneamente pela absorção dos íons cálcio e fosfato do fluido, pois este é altamente supersaturado com relação à apatita (UCHIDA et al., 2002; YANG et al., 2004; ZHAO et al., 2010).

Segundo Notingher et al., (2003) as técnicas de espectroscopias Raman e Infravermelho (IV) possibilitam identificar a nucleação de HA na superfície de biomaterias, permitindo uma compreensão completa dos modos de vibração de fosfatos e carbonatos que compõem a HA, porque estas técnicas exploram diferentes propriedades da molécula. Tais propriedades e aspectos relacionados a ambas as técnicas são apresentados na seção 2.4.4.

Conforme Awonusi et al. (2007) e Marković et al. (2011) os espectros Raman e IV da HA ocorrem a partir de grupos funcionais de fosfato e carbonato. Teoricamente são quatro os modos vibracionais dos íons fosfato, ν_1 , ν_2 , ν_3 e ν_4 , e todos eles são Raman e infravermelho ativos. Os íons carbonato tem quatro modos de vibração, ν_1 , ν_2 , ν_3 e ν_4 , três são observados no infravermelhos (ν_2 , ν_3 e ν_4) e dois no Raman (ν_1 e ν_4). Na espectroscopia IV podem ocorrer contribuições do grupo hidroxila e interferência atmosférica de CO_2 e H_2O (TAQUE Jr., 2007)

Para os espectros Raman da HA, a atribuição do bandas de fosfato está bem estabelecida, mas a atribuição das bandas de carbonato apresenta

divergências na literatura. Um pico em aproximadamente 1070 cm^{-1} tem sido atribuído tanto ao modo ν_3 de fosfato ou ao modo ν_1 do carbonato, ou a ambos (AWONUSI et al., 2007).

De acordo com Penel et al. (1998) estas divergências são atribuídas a proximidade das frequências, que inviabilizam a distinção entre os dois grupos. Entretanto, Marković et al. (2011) afirmam que pode haver a sobreposição das bandas e podem ser determinada por ajuste de curvas.

Muitos pesquisadores tem utilizado as técnicas de espectroscopia Raman e Infravermelho para caracterizar a HA, podendo ser citados: Bertoluzza et al. (1995); Hu et al. (2009); Pucáet et al. (2004); Penel et al. (1998, 2005); Silva et al. (2002, 2005); Marković et al. (2011) e Popa et al. (2011).

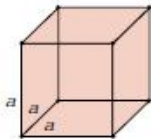
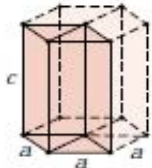
Na seção 4.3.6 é apresentada a tabela 8 que mostra as frequências e os valores dos modos vibracionais da HA para as espectroscopias Raman e IV.

2.2 TITÂNIO E SEUS ÓXIDOS

O titânio tem uma densidade relativamente baixa ($4,5\text{ g/cm}^3$), um alto ponto de fusão ($1668\text{ }^\circ\text{C}$) e módulo de elasticidade da ordem de 107 GPa . Em comparação com o aço, as ligas de titânio são extremamente fortes, resistentes à tração à temperatura ambiente ($1,4\text{ GPa}$), fornecendo boa resistência mecânica. Além disso, as ligas são altamente dúcteis e facilmente forjadas e usinadas (CALLISTER, 2001).

O titânio possui duas formas cristalográficas. Quando em temperatura ambiente, o titânio comercialmente puro tem forma hexagonal densamente agrupada (hcp), que corresponde a estrutura cristalina da fase alfa (α). Acima da temperatura de 883°C o titânio passa para forma cúbica de corpo centrado (ccc) conhecida como fase beta (β) (CALLISTER, 2001). A tabela 2 apresenta os modelos gerais para estas estruturas cristalinas.

TABELA 2: MODELOS GERAIS DAS ESTRUTURAS CRISTALINAS CÚBICA E HEXAGONAL

Sistema	Lados e ângulos	Geometria
Cúbico	Lados: $a = b = c$ Ângulos: $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	
Hexagonal	Lados: $a = b \neq c$ Ângulos: $\alpha = \beta = 90^\circ$, $\gamma = 120^\circ$	

FONTE: Adaptado de Callister (2001).

O titânio e as suas ligas são amplamente utilizados como materiais de implantes metálicos, devido à sua boa biocompatibilidade, resistência à corrosão e propriedades mecânicas (BORN et al., 1998; POPA, et al., 2011, LILJA et al., 2011). A biocompatibilidade do titânio está intimamente relacionada às propriedades da camada superficial de óxido, em termos da sua estrutura, morfologia e composição (LI et al., 2004).

O óxido de titânio TiO_2 existe em três fases alotrópicas naturais: rutilo (tetragonal, grupo espacial D_{4h}^{14} ($P4_2/mnm$), broquita (ortorrômbica, grupo espacial D_{2h}^{15} ($Pbca$)), e anatásio (tetragonal, grupo espacial D_{4h}^{19} ($I4_1/amd$)). Sendo as duas primeiras formas mais comuns e de maior importância tecnológica. A fase rutilo é a única fase estável, enquanto as fases anatásio e broquita são metaestáveis em qualquer temperatura. O anatásio é cineticamente estável a temperaturas mais baixas, mas se converte em rutilo em temperaturas da ordem de 600°C a 800°C (BALACHANDRAN & EROR, 1982; MA et al., 2007; LILJA et al., 2011; SAVIO et al., 2012). A figura 1 representa os óxidos de titânio nas fases anatásio (fig. 1a) e rutilo (fig. 1b), cada átomo de titânio é rodeado por seis átomos de oxigênio para formar um octaedro TiO_6 (MA et al., 2007).

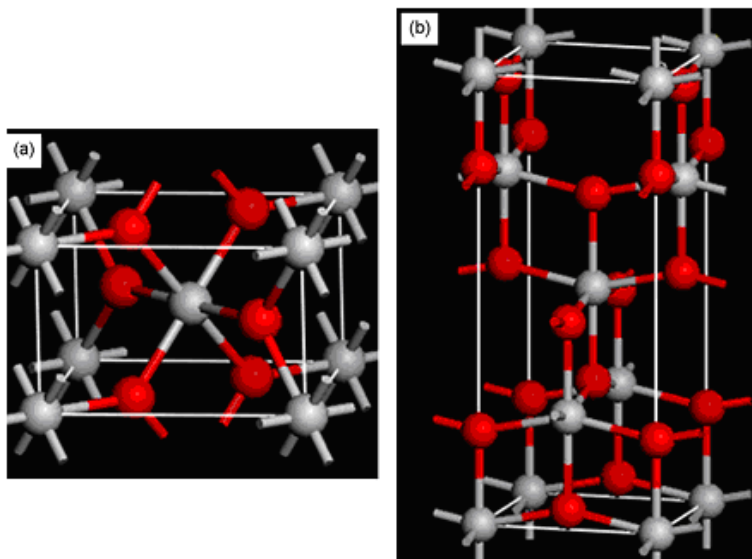


Figura 1 - Fase do TiO_2 : rútilo (a) e anatásio (b). As esferas vermelhas representam íons de Ti e as esferas cinzas são os íons de oxigênio (MA et al., 2007).

A razão para resistência a corrosão do Ti é que quando exposto ao ar, ele é revestido por uma fina camada, da ordem dezenas de nanômetros, de óxido de titânio amorfo e não estequiométrico. Esta camada tem se mostrado essencial para a resposta de corpo inerte, pois o óxido forma a camada de interface entre o sistema biológico e a material de implante (HOBBO et al., 1997; BORN et al., 1998; LINDBERG et al., 2008; LILJA et al., 2011; GAMES et al., 2012; LIU et al., 2012).

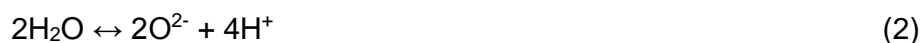
A camada de óxidos funciona como uma barreira impedindo que íons metálicos oriundos do interior do metal sejam liberados para o meio biológico, e também previne a corrosão do metal. Além disso, sempre que danificada, a camada de óxido é reconstituída num intervalo de tempo muito curto (milissegundos) quando está em contato com um meio oxidante, como o fluido corpóreo (VELTEN et al., 2002). Portanto, o tecido vivo em torno do implante fica sempre em contato com a superfície da camada de óxido e não com o substrato de Ti (SANTOS Jr., 2005; MINAGAR et al., 2012). No entanto, existem vários pontos fracos na camada de óxido natural que permitem a íons corrosivos penetrarem a camada e provocarem a degradação do material (LIU et al., 2012).

2.3 OXIDAÇÃO ANÓDICA

Vários tratamentos físicos e químicos para o Ti foram propostos na literatura, tendo em vista a obtenção de superfícies com melhor biocompatibilidade. Dentre estas técnicas, a oxidação pode melhorar a resistência ao desgaste e corrosão, aumenta a rugosidade e o grau de porosidade da superfície da camada superficial de TiO_2 , com espessura variada (LI et al., 2004; LIU et al., 2012).

Conforme Minagar et al. (2012) a modificação da superfície é essencial para promover a integração óssea dos biomateriais. A oxidação anódica é um método eletroquímico eficaz que tem sido utilizado com sucesso no tratamento de superfície de implantes ortopédicos (LIU et al., 2004).

A oxidação anódica pode ser realizada em uma célula eletroquímica com dois eletrodos (anodo de titânio, catodo de platina ou titânio). As reações de oxidação e redução ocorrem no anodo quando aplicada uma corrente ou tensão constante, assim se estabelece um campo elétrico que orienta a difusão de íons presentes no eletrólito, levando à formação de um filme de óxido na superfície do anodo. A figura 2 representa um esquema geral da anodização. De acordo com Liu et al. (2004) as principais reações químicas que ocorrem durante a anodização do titânio, são:



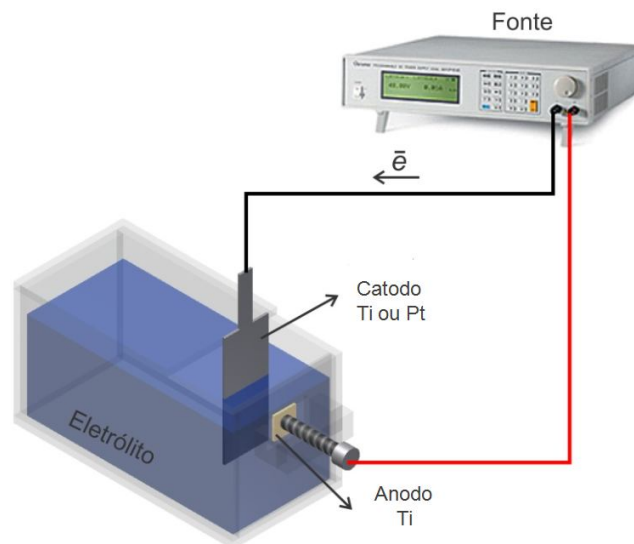


Figura 2- Esquema de uma célula eletroquímica utilizada para a oxidação anódica.

Óxidos anódicos de titânio possuem alta resistividade com relação ao eletrólito e ao substrato metálico, assim a queda de tensão ocorre principalmente através do filme de óxido. Desde que o campo elétrico seja suficientemente elevado para conduzir íons através do óxido, com um fluxo livre de corrente, o óxido continuará crescendo, criando uma camada mais espessa (LIU et al., 2004).

Quando não ocorre a ruptura dielétrica, a espessura, d , da camada de óxido é quase linearmente dependente da tensão U aplicada seguindo a relação $d = \alpha U$, onde α é uma constante, a qual geralmente está dentro do intervalo $1,5 - 3,0 \text{ nm V}^{-1}$ (LIU et al., 2004).

A oxidação anódica pode ser efetuada de dois modos: (a) mantendo a densidade de corrente constante, modo galvanostático, ou (b) mantendo o potencial constante, modo potenciostático (LIU et al., 2004).

Quando a tensão aplicada excede o limite de ruptura dielétrica do óxido, este passará a se comportar como um condutor, o processo levará a libertação de gás e frequentemente faíscas são geradas (LI et al., 2004; LIU et al., 2004). O centelhamento contribui para a formação de um filme de morfologia porosa (SUL et al., 2001). Esta técnica é conhecida Oxidação de Micro-Arco (MAO). Tem sido relatado que em potenciais de 80 V e 100 V,

utilizando como eletrólito H_3PO_4 e H_2SO_4 , abaixo do limite de ruptura dielétrica o filme de óxido anódico é relativamente fino e geralmente não-poroso (YAO & WEBSTER, 2007).

As propriedades químicas e estruturais dos óxidos anódicos variam de acordo com os diferentes ácidos utilizados como eletrólitos. Os parâmetros eletroquímicos da oxidação anódica afetam significativamente o comportamento do crescimento e as propriedades dos filmes. Tais parâmetros incluem a solução utilizada como eletrólito, a concentração de reagentes, a temperatura, os parâmetros elétricos, tempo de anodização, velocidade de agitação da solução, etc. (LIU et al., 2004; LI et al., 2004; CUI et al., 2009; LIU et al., 2012).

O potencial do anodo e a corrente elétrica podem alterar o processo de transferência de ânions, durante a anodização; como também determinar a espessura, a morfologia da superfície e a microestrutura dos revestimentos anódicos.

Em geral, admite-se que o comportamento do crescimento do filme óxido anódico é caracterizado pela dinâmica eletroquímica entre a capacidade para a formação do filme de óxido e a velocidade de dissolução do óxido determinada pela natureza do eletrólito (LIU et al., 2004; LIU et al., 2012). No entanto, ainda existem lacunas sobre a influência do eletrólito na formação de fases cristalinas de óxidos de titânio nas superfícies de Ti reagidas anodicamente (JAEGGI et al., 2012).

A temperatura constante durante a anodização é geralmente necessária para manter um campo de dissolução homogêneo sobre toda a área que está sendo oxidada, e uma vez que o aumento de temperatura irá acelerar a taxa de dissolução. Frequentemente a temperatura de trabalho é muitas vezes, mantida relativamente baixa (temperatura ambiente) para evitar que os óxidos se dissolvam (YAO & WEBSTER, 2007).

Dependendo das condições de oxidação, os filmes podem crescer na forma densa ou porosa, amorfos ou cristalinos, ou como nanotubos (LIU et

al., 2012). Segundo Sul et al. (2001) a transformação cristalina está intimamente relacionada com a ruptura dielétrica do filme durante a anodização. Em geral, quando baixas tensões são aplicadas, o filme de óxido anódico é amorfo (SUL et al., 2001). Com tensões crescentes, a estrutura do óxido muda de um filme amorfo para cristalino (LIU et al., 2012). Entretanto a literatura também aponta que a cristalização em filmes galvanostaticamente crescidos foi encontrada a partir de potenciais baixos (10-20 V) (JAEGGI et al., 2012).

A oxidação anódica tem se mostrado com um método de grande interesse para a preparação de filmes de óxido de titânio, pois os filmes de óxido melhoraram a capacidade de formação de HA em SBF, o que está relacionado ao fato de que o titânio após oxidação anódica produz as fases anatásio e/ou rutilo, condicionado aos parâmetros eletroquímicos (CUI et al., 2009). Outro fator que contribui para a bioatividade é que os filmes de óxido, produzidos por anodização, podem conter espécies com ânions constituídas a partir do eletrólito, o que pode ser mais eficaz para a formação de cálcio e fosfatos bioativos depois de ser implantado no corpo humano (LEE et al., 2006).

A resposta do tecido ósseo aos implantes oxidados é fortemente influenciada pela escolha dos eletrólitos da anodização. Diferentes ácidos (ácido fosfórico H_3PO_4 , ácido-sulfúrico H_2SO_4 , ácido acético- CH_3COOH , entre outros), os sais neutros e soluções alcalinas são amplamente utilizados como eletrólitos para a anodização de titânio. O comportamento eletroquímico sobre o crescimento do óxido de titânio foi estudado por Sul et al. (2001), que verificou que dentre os diferentes eletrólitos analisados (H_3PO_4 , H_2SO_4 , CH_3COOH , $NaOH$, $Ca(OH)_2$) a espessura de óxido anódico em H_2SO_4 foi a mais elevada. Os autores também constataram que eletrólitos ácidos são mais eficientes na formação de óxidos frente a soluções de hidróxidos.

Yao & Webster (2007) realizaram estudos sobre a técnica de anodização no titânio para aplicações biomédicas. Um levantamento dos parâmetros de anodização é apresentado na tabela 3.

TABELA 3 - PARÂMETROS EXPERIMENTAIS DE ALGUNS ESTUDOS DE ANODIZAÇÃO EM DIFERENTES ELETRÓLITOS

Eletrólito	Molaridade	Tensão (V)	Tempo (s)	Temp. (°C)	Referência
ácido sulfúrico	1,0	125	-	-	Zinger et al, 2003
	0,5 e 1,3	90, 155, 180	-	-	Yang et al, 2004
	1,0	80	-	ambiente	Larsson et al, 1996
ácido fosfórico	0,2	350 (70 A/cm ²)	-	20	Zhu et al, 2004
	1,0	40-80	10-47	17	Sul et al, 2001
hidróxido de sódio	5,0	10-20	-	25	Huang, 2004
	0,1	40-80	22-110	17	Sul et al, 2001
hidróxido de cálcio	0,1	40-80	13-53	17	Sul et al, 2001
	0,02 e 0,1	200-260 (70 A/cm ²)			Chiesa et al, 2003

FONTE: adaptado de (YAO & WEBSTER, 2007).

Yao & Webster (2007) verificaram que geralmente a camada anodizada não é uniforme, devido à existência de falhas e defeitos de estresse local, e também que a espessura do filme de óxido não é uniforme. Quando a tensão aplicada é aumentada, o limite da ruptura dielétrica nos pontos frágeis pode ser excedida, favorecendo o processo de centelhamento. A temperatura local nestes pontos pode alcançar milhares de graus kelvin, levando a um processo de fusão local.

A figura 3 mostra um diagrama esquemático de formação porosa de óxido de titânio proposto por Choi et al. (2007).

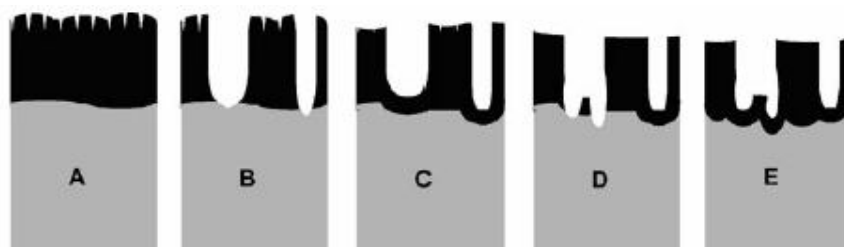


Figura 3 - Diagrama esquemático de formação porosa de óxido de titânio sob ruptura dielétrica: (A) o crescimento de óxido de espessura máxima, (B) óxido de ruptura através da formação de cristalitos (formação de poros), (C) repassivação imediata de pontas de poros, (D) ruptura do óxido repassivação, e (E) a dissolução do óxido formado e segunda repassivação (CHOI et al., 2007).

Basicamente, o crescimento do revestimento anódico é determinado por um equilíbrio entre a velocidade de formação do filme óxido e a velocidade de dissolução do óxido determinado pela natureza do eletrólito. Por outro lado,

a natureza do eletrólito está estreitamente relacionada com os parâmetros de processamento, tais como a concentração do eletrólito, tensão aplicada, a corrente de densidade, pH e etc (YAO & WEBSTER, 2007).

Cui et al. (2009) estudaram a estrutura cristalina e morfologia da superfície de filmes anódicos em titânio em quatro diferentes eletrólitos: ácido acético, ácido sulfúrico, ácido fosfórico e soluções de sulfato de sódio com diferentes tensões (100 V, 150 V e 180 V) durante 1 min à temperatura ambiente. Sendo de interesse no presente estudo o comportamento dos ácidos sulfúrico e fosfórico, descrevemos apenas os resultados para estes ácidos.

Segundo Cui et al. (2009) a oxidação anódica com soluções de H_2SO_4 em tensões de 100 a 180V, formou uma camada de óxido de titânio com uma estrutura de óxido com poros abertos formados sobre a superfície de metal titânio. A quantidade e o tamanho dos poros aumentou em função da tensão (no intervalo entre 100 a 150 V), enquanto que a estrutura porosa das camadas de titânio não se alterou com o aumento tensão de 150 a 180 V. A análise dos difratogramas de RX mostrou que os filmes de óxido são principalmente da fase anatásio na anodização a 100 V, fases rutílio e anatásio a 150 V, e apenas a fase de rutílio está presente a 180V. Concluíram que a fase anatásio diminuiu com o aumento da tensão e foi completamente convertida em rutílio após a anodização a 180 V.

Ainda conforme Cui et al. (2009) o titânio anodizado em H_3PO_4 forma filmes de óxido uniformes e compactos quando utilizadas tensões de 100 e 150 V, enquanto que uma estrutura do tipo “fio de poro” foi formada a 180V. Por análise de DRX não apareceram fases anatásio e/ou rutílio com um aumento na tensão aplicada após a anodização em solução H_3PO_4 . Sendo assim, concluíram que camadas de óxido amorfo foram formadas sobre a superfície de titânio após a anodização em solução H_3PO_4 .

Após testes em solução SBF Cui et al. (2009) verificaram que para todas as condições de oxidação com ácido sulfúrico formou HA em diferentes períodos de imersão (1 e 7 dias), enquanto que em nenhuma condição de anodização o ácido fosfórico não apresentou bioatividade. Com base nesses

resultados foi concluído pelos autores que a estrutura do óxido de rutílio desempenhou um papel importante na indução de HA por causa da relação de rede correspondente entre rutílio e HA.

Resultados similares aos de Cui et al. (2009) foram obtidos por Song et al. (2009) que oxidaram titânio com uma densidade de corrente 20 mA/cm² durante 120 s. Verificaram a formação das fases rutílio e anatásio quando utilizado como eletrólito o ácido sulfúrico, e um filme amorfo, sem a presença dos óxidos de titânio quando utilizado o ácido fosfórico.

Kuromoto et al. (2007) produziram filmes de óxidos de titânio em Ti-cp por oxidação anódica potenciostática com tensões de: 50 V, 100 V, 150 V, 200 V e 250 V, e utilizando como eletrólito H₃PO₄ com 1,4 M. Observou-se que as camadas de óxido de titânio poroso foram formadas em todos os valores de tensão utilizados. Porém, diferentes morfologias foram observadas: para baixos valores de tensão um filme fino foi formado, e com o aumento da tensão obtiveram filmes porosos mais espessos.

Diversos pesquisadores da área de biomateriais, como Sul et al., (2002); Kokubo et al. (2009); Games et al. (2012); Jaeggi et al. (2012); Liu et al. (2012), utilizaram a Espectroscopia Raman para a caracterização e identificação dos óxidos de titânio. A seguir são apresentados os resultados de Jaeggi et al. (2012).

Jaeggi et al. (2012), submeteram o titânio puro a anodização em ácido sulfúrico 1M (com tensões de: 200 V, 100 V, 50 V e 10 V) e em ácido fosfórico 1M (com tensões de: 200 V, 100 V e 10 V). A análise com Espectroscopia Raman para ambos os eletrólitos mostrou que uma cristalização parcial parece iniciar-se com potenciais a partir de 10 V. Sendo que o grau de cristalinidade é mais pronunciado para os óxidos crescido por ácido sulfúrico em comparação com ácido fosfórico. Com o aumento do potencial de anodização, os filmes de ácido sulfúrico mostram um padrão bem definido da fase anatásio que, gradualmente, se transforma em rutílio. Os óxidos crescidos com ácido fosfórico, mostram picos indicando uma mistura de anatásio e rutílio.

A investigação de Jaeggi et al. (2012) apresenta um modelo de crescimento de filmes anódicos em ácido sulfúrico e fosfórico, no qual os locais de cristalização no interior dos filmes estão correlacionados com a presença de ânions dos resíduos dos ácidos no filme. A figura 4 representa este modelo.

O modelo indica que os óxidos produzidos em ácido sulfúrico iniciam a cristalização na parte exterior e, geralmente, mostram um elevado grau de cristalização, enquanto o ácido fosfórico inicia o crescimento de uma fase amorfa na interface Ti/TiO₂ (JAEGLI et al. 2012).

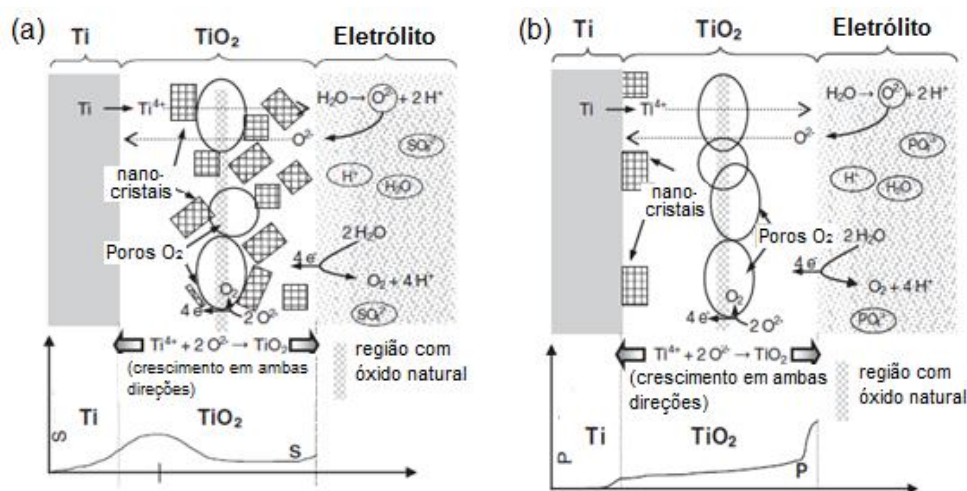


Figura 4 - Representação esquemática de Jaeggi *et al.*, (2012) para o estado de crescimento inicial de óxidos anódicos produzido em (a) ácido sulfúrico e (b) ácido fosfórico, cristalinidade correlacionado ao eletrólito.

Um estudo de Park et al. (2005) investigou a anodização do titânio utilizando como eletrólito uma mistura de 0,25 M de H₂SO₄ com 0,25 M H₃PO₄. Foi utilizada uma densidade de corrente de 380 A/m² e um tempo de oxidação de 1 hora, sob tensões de 220V e 320V. O tamanho dos poros aumentou com a tensão. Fases cristalinas de anatásio e rutilo foram observadas por DRX, e a bioatividade foi avaliada com testes de adesão celular. Os autores concluíram que somente o filme produzido em 320 V é bioativo.

Lee et al. (2006) anodizaram o titânio, com densidade de corrente constante de 35 mA/cm² e aumentaram gradualmente potencial anódico com o tempo até atingir o valor de 180 V. A partir disto o processo foi transferido para o modo de potencial constante a 180 V por 30 minutos. Os eletrólitos utilizados

foram misturas de soluções com ácidos sulfúrico e fosfórico em diferentes molaridades: 1,5 M H_2SO_4 /0,3 M H_3PO_4 ; 1,5M H_2SO_4 /0,6M H_3PO_4 e 1,5 H_2SO_4 /0,9M H_3PO_4 . A estrutura e morfologia dos filmes mostraram-se dependente da composição do eletrólito e o tamanho dos poros aumentou gradualmente com a concentração de ácido fosfórico. Os padrões de DRX indicaram picos relacionados à fase anatásio e ao substrato de Ti. Este último diminui gradualmente com o aumento da concentração de ácido fosfórico. Estes dados indicam que durante a anodização em ácido fosfórico concentrado, o filme anódico cresce mais rapidamente e facilmente incorpora as espécies químicas do eletrólito. Esta incorporação de ânions pode atuar como interrupção para a formação de anatásio.

A partir dos espectros de Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS) Lee et al. (2006) verificaram a incorporação de fósforo e enxofre no filme, sugerindo que durante a anodização os íons de fosfato e de sulfato do eletrólito migram através da camada de óxido, sendo que a difusão de íons fosfato do eletrólito é dominante em relação ao de íon sulfato. Os filmes de óxidos formados com a misturas dos ácidos sulfúrico e fosfórico são bioativos. Foi verificado com a análise EDS uma maior capacidade de nucleação de Ca-P no filme anódico formado no eletrólito com alta concentração de ácido fosfórico.

2.4 TRATAMENTO TÉRMICO

Associado a oxidação anódica, alguns autores têm sugerido que o tratamento térmico pode contribuir para o crescimento de óxidos cristalinos de Ti.

Os tratamentos térmicos dos metais podem ser executados, principalmente, para obter a recristalização do material e modificação das fases. O material para recristalizar-se deve apresentar um mínimo de encruamento e ser aquecido a uma temperatura adequada. Alguns metais recristalizam em temperatura ambiente e outros, que apresentam mudança de fases, não necessitam encruamento para recristalizar (CORTEZ et al., 2007; YOGI et al., 2008)

. Titânio e suas ligas são tratadas termicamente a fim de otimizar propriedades especiais, como resistência à fratura, resistência à fadiga, resistência à fluência à alta temperatura, além de aliviar tensões residuais produzidas durante a fabricação, otimizar a combinação de ductilidade, usinabilidade, e estabilidade dimensional e estrutural. A resposta do titânio e ligas de titânio ao tratamento térmico depende da composição do metal e os efeitos dos elementos de liga sobre a transformação α - β do titânio. Além disso, nem todos os ciclos de tratamento térmico são aplicáveis a todas as ligas de titânio, porque as várias ligas são projetadas para diferentes fins. A liga Ti-6Al-4V é projetada para alta resistência em temperaturas baixas à moderadas (CORTEZ *et al*, 2007; YOGI *et al*, 2008).

Park et al. (2007) verificaram as características dos filmes de óxido formados na superfície do Ti-cp obtidos por tratamento térmico em atmosfera aberta a 530°C, 600°C, 700°C, 800°C, 900°C e 1000°C, e analisaram o efeito na bioatividade.

A análise de DRX mostrou a presença de anatásio quando o Ti é tratado a 530°C e 600°C, anatásio e rutílio a 700°C, rutílio a 800°C, 900°C e 1000°C. O tratamento térmico no Ti induziu um aumento do oxigênio nas superfícies de óxidos de Ti, sendo que uma maior quantidade de grupos hidroxila está presente nas amostras tratadas a 530°C, 600°C, 800°C e 900°C. Quando o Ti-cp é tratado a 700°C, o filme de óxido de titânio não é bem aderido ao substrato. Verificaram que os grupos hidroxilas diminuem em temperaturas de tratamento térmico acima de 800°C, o que pode estar relacionado com o aumento do tamanho de grão. Nos ensaios de bioatividade durante 7 dias de imersão em MEM (Meio Essencial Mínimo de Eagle) nucleou HA em todas as amostras nos diferentes tratamentos térmicos. Concluíram que a presença de hidroxila é um fator importante para a modificação de superfícies implantes; porque afeta positivamente a bioatividade.

Yang et al. (2004) oxidaram o Ti-cp com 1M de H₂SO₄ em diferentes tensões (90 V, 155 V, 180 V), e também sob 155V com diferentes molaridades (0,5 M, 1,0 M, 3,0 M). Observaram que não ocorre formação de HA sobre o titânio anodizado sem centelhamento, mesmo estando presente anatásio no filme. No entanto, verificaram que após um tratamento térmico a 600 °C/1 h, a

quantidade da fase anatásio aumentou, sendo que parte foi convertida em rutilo, favorecendo a bioatividade.

Cui et al. (2008) oxidaram o Ti-cp com 2,0 M de CH_3COOH a 150V durante 1 minuto. Os difratogramas de DRX mostram apenas picos de titânio para as amostras oxidadas, que após tratamento térmico a $600^\circ\text{C}/1\text{h}$ apresentam uma mistura de anatásio e rutilo. Estes resultados indicam que os filmes de Ti anteriormente amorfos podem ser convertidos em uma mistura das fases cristalinas anatásio e rutilo, quando tratados termicamente. Os ensaios de bioatividade mostraram uma densa camada de HA formada sobre a superfície de titânio substratos após a oxidação e tratamento térmico, sendo que não nucleou HA nas amostras não tratadas termicamente.

ZHAO et al. (2010) oxidaram a liga Ti6Al4V com 1M H_2SO_4 sob 30 V durante 1 minuto e posteriormente trataram termicamente a $600^\circ\text{C}/1\text{h}$. Verificaram um efeito oposto de tratamento térmico sobre a capacidade de formação de HA. Após 4 semanas imersão em SBF, não observaram a nucleação de HA nas superfícies das amostras com tratamento térmico, enquanto que após 7 dias de imersão em SBF nas amostras apenas oxidadas formou HA. Estes resultados indicaram a perda de bioatividade devido ao tratamento térmico.

Conforme Zhao et al. (2010) a presença do grupo hidroxila (OH) nas superfícies de Ti é um dos principais fatores que favorecem a bioatividade. A quantidade do radical OH não aumenta devido ao tratamento térmico, mas a microestrutura ou composição dos filmes de óxidos de titânio são alteradas, o que pode levar a uma maior capacidade de formar HA. Após o tratamento térmico os teores de oxigênio na superfície são maiores do que na parte interna do Ti, indicando que há menos vacâncias de oxigênio e posições de ligação para formação Ti-OH. Assim diminuem os defeitos nos filmes levando à redução da energia de superfície, sendo este fato responsável pela perda de bioatividade dos filmes de óxidos de Ti. No entanto, segundo Zhao et al. (2010) estes resultados precisam ser mais observados por experimentos.

Em resumo, o objetivo de todas as investigações citadas acima, foi modificar as superfícies através de oxidação e/ou tratamento térmico para torná-las bioativas. Apesar da expressiva quantidade de trabalhos sobre anodização na superfície do Ti ainda não está claro, por exemplo, qual o melhor eletrólito ou qual a melhor relação rugosidade/porosidade necessária para diminuir o tempo de osseointegração após as cirurgias.

2.5 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

2.5.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica muito versátil e utilizada rotineiramente para a análise microestrutural e morfológica de superfícies de materiais.

O funcionamento de um microscópio eletrônico de varredura (MEV) é baseado na utilização de um feixe de elétrons para explorar a superfície da amostra, ponto a ponto, por linhas sucessivas e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica. Por um sistema de bobinas de deflexão, o feixe pode ser guiado de modo a varrer a superfície da amostra segundo uma malha retangular. O sinal de imagem resulta da interação do feixe incidente com a superfície da amostra sendo captado pelo detector e utilizado para modular o brilho do monitor, permitindo a observação. A maioria dos instrumentos usa como fonte de elétrons um filamento de tungstênio aquecido, operando numa faixa de tensões de aceleração de 1 a 50 kV. O feixe é acelerado pela alta tensão criada entre o filamento e o ânodo. Em seguida, é focalizado sobre a amostra por uma série de lentes com um spot menor que 4 nm. O feixe interagindo com a amostra produz elétrons e fótons que são coletados por detectores adequados e convertidos em um sinal de vídeo (DEDAVID et al., 2007). Na figura 5 podem ser visualizados os principais componentes do MEV.

Na microscopia eletrônica de varredura, os sinais de maior interesse para a formação da imagem são os elétrons secundários e os retroespalhados. À medida que o feixe de elétrons primários vai varrendo a amostra, estes sinais

vão sofrendo modificações de acordo com as variações da superfície. Os elétrons secundários fornecem imagem de topografia da superfície da amostra e são os responsáveis pela obtenção das imagens de alta resolução. Já os elétrons retroespalhados fornecem imagens características de variação de composição permitindo a identificação de diferentes fases e orientações cristalinas (DEDAVID et al., 2007).

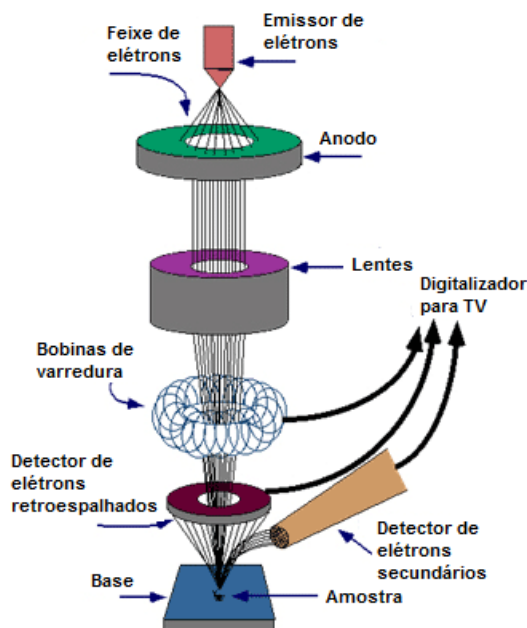


Figura 5 - Principais componentes do MEV (www.pemtron.com)

2.5.2 Microanálise de raios-X por espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

A microanálise é um dos mais importantes instrumentos para a análise química de materiais orgânicos e inorgânicos. Através da identificação dos raios-X emitidos pela amostra, quando da interação com o feixe eletrônico, é possível determinar a composição de regiões com até 1 μm de diâmetro. É uma técnica não destrutiva, permitindo determinar quantidades de até 1-2% dos elementos presentes na amostra (MALISKA, 2003).

Para executar a microanálise de elementos na configuração de um MEV, podem ser acoplados dois detectores que captam raios-X característicos: dispersão de energia (EDS) ou dispersão em comprimento de onda (WDS),

que permitem coletar fótons produzidos pelo feixe de elétrons primários (DEDAVID et al., 2007).

A técnica de EDS considera o princípio de que a energia de um fóton (E) está relacionada com a frequência eletromagnética (ν) pela relação $E = h\nu$, onde “ h ” é a constante de Planck. Fótons com energias correspondentes ao espectro de raios-X atingem um detector, o que permite analisar os comprimentos de onda de modo simultâneo (DEDAVID et al., 2007).

A interpretação dos espectros de EDS é facilitada por uma base de dados que contém, para cada elemento, as energias e a intensidade das raia que as produziu. É possível localizar, para cada energia do espectro, a lista dos elementos que possuem uma raia neste domínio energético. Cabe salientar que os elementos em quantidade inferior a 0,2% em massa não podem ser detectados. A identificação dos elementos é facilitada pela escolha adequada da tensão do feixe de elétrons.

2.5.3 Difração de Raios-X

É fundamental na área de engenharia de materiais conhecer a estrutura cristalina e a microestrutura de um material para entender suas propriedades mecânicas e eletrônicas (KAHN, 2003).

A estrutura de uma rede cristalina se inicia com a nucleação dos cristais seguida de crescimento dos cristalitos, formando assim os grãos cristalinos; a figura 6 representa estes estágios (CALLISTER, 2001). Materiais com estrutura cristalina definida possuem ordem de longo alcance, enquanto os amorfos não a possuem sendo a ordem de curto alcance. No entanto, o limite entre as fases cristalina e amorfa nem sempre é bem definido. A estrutura de um cristal é uma característica intrínseca do material, mas, também pode estar sujeita a influência das condições de crescimento cristalino (MAHAN & MYERS, 1995).

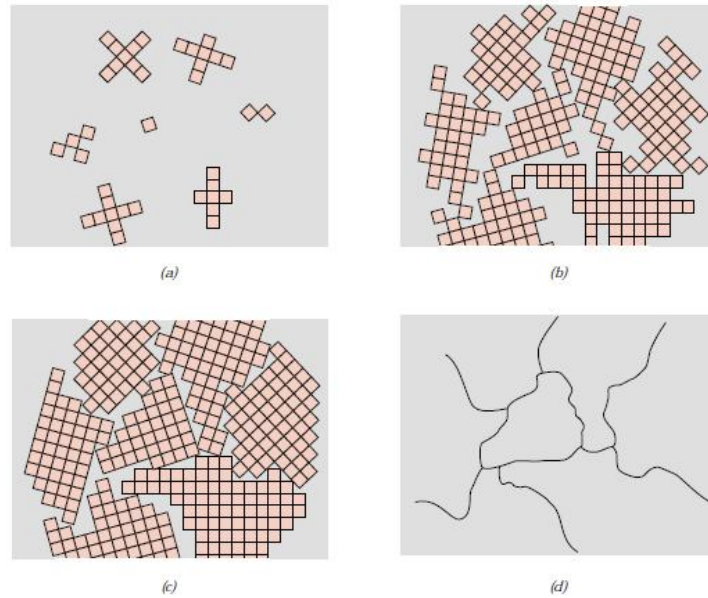


Figura 6 - Representação esquemática dos diversos estágios da solidificação de um material policristalino: (a) nucleação dos cristais, (b) crescimento dos cristalitos (c) formação dos grãos (d) estrutura dos grãos no microscópio óptico (CALLISTER, 2001).

Os Raios-X, ao incidirem sobre um material, podem ser espalhados elasticamente, sem perda de energia pelos elétrons dos átomos que compõe a estrutura desse material. O fóton de Raios-X, após colidir com um elétron, muda sua trajetória mantendo, porém, a mesma fase e o comprimento de onda do fóton incidente. De acordo com a óptica física, pode-se dizer que a onda eletromagnética é instantaneamente absorvida pelo elétron e reemitida; assim, cada elétron atua como um centro de emissão de Raios-X. Se os átomos que geram este espalhamento estiverem arranjados de maneira ordenada, como em uma estrutura cristalina, apresentando entre eles distâncias próximas ao do comprimento de onda da radiação incidente, os Raios-X espalhados podem interferir construtiva ou destrutivamente dando origem a um padrão de difração (KANH, 2003).

Considerando-se dois ou mais planos de uma estrutura cristalina, as condições para que ocorra a difração de Raios-X vão depender da diferença de caminho percorrida pelos Raios-X e o comprimento da onda da radiação incidente. Esta condição é expressa pela Lei de Bragg, que é expressa por

$$n\lambda = d \sin \theta \quad (5)$$

Onde $n = 1, 2, 3, \dots$, λ , é comprimento de onda dos raios-X em Angstrom (Å), d é distância interplanar, θ é o ângulo de incidência ou reflexão do feixe incidente (KAHN, 2003). A figura 7 ilustra os planos atômicos de um material, os Raios-X incidentes e difratados e a distância interplanar d e o ângulo θ .

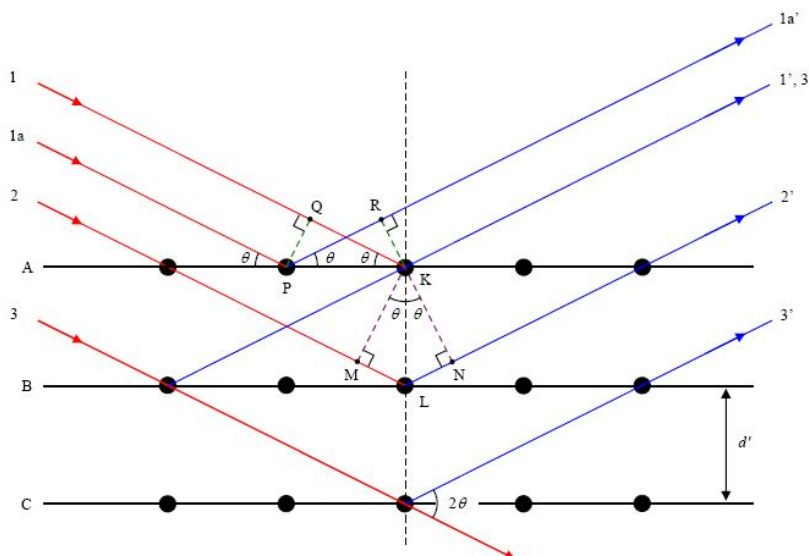


Figura 7 - Esquema da difração de Bragg (KAHN, 2003).

A razão pela qual um único plano de átomos reflete a onda incidente de modo mais eficiente quando o ângulo de incidência é igual ao ângulo de reflexão, é uma consequência do espaçamento regular dos átomos no plano. A equação de Bragg, que mostra que o fato das reflexões vindas de planos paralelos das redes cristalinas reforçarem-se entre si resulta do espaçamento interplanar uniforme. Se o arranjo dos átomos nos planos ou o espaçamento entre planos paralelos torna-se irregular, não se observa padrões de difração bem definidos (MAHAN & MYERS, 1995).

A profundidade de penetração do feixe de Raios-X, quando é utilizada a geometria de Bragg-Bretano, pode chegar a ser da ordem de dezenas de μm , para metais - por exemplo, Ti (KAHN, 2003; de SOUZA, 2010). Portanto, esta geometria de difração não é adequada para a análise de filmes finos, o que corresponde às amostras do presente trabalho.

Para a realização de difração de raios-X em filmes finos, é então adequada a utilização da geometria Seemann-Bohlin, na qual o ângulo de

incidência rasante (θ) é fixo enquanto o detector faz uma varredura em 2θ . Esta técnica é denominada de difração de raios-X em ângulo rasante e promove um significativo aumento no caminho ótico do feixe no interior do filme. A difração ocorre numa região mais próxima da superfície, permitindo obter difratogramas que fornecem mais informações sobre os compostos na superfície em relação às informações de substrato (CULLITY, 1978).

2.5.4 Espectroscopias Raman e Infravermelho

Vibrações moleculares podem ser excitadas por meio de dois mecanismos físicos: a absorção e espalhamento inelástico de fótons. Conforme Siebert & Hildebrandt (2008) a absorção direta de fótons é obtida por irradiação das moléculas com luz policromática que inclui fótons de energia correspondente à diferença de energia $h\nu_k$ entre dois níveis de energia de vibração, a inicial (o estado fundamental) e a final (estado excitado) corresponde ao estado vibracional,

$$h\nu_k = h\nu_f - h\nu_i \quad (6)$$

de forma que essas diferenças de energia são da ordem de 0,5 e 0,005 eV, a luz com comprimentos de onda maiores do que 2,5 μm , que é a luz infravermelha (IV), é suficiente para induzir a transições vibracionais. Assim, a espectroscopia vibracional que se baseia na absorção dos quanta de luz é denotada como absorção ou espectroscopia no infravermelho IV (Siebert & Hildebrandt, 2008).

Em contraste com a espectroscopia IV, o mecanismo de espalhamento molecular para excitar vibrações requer irradiação monocromática. Uma parte dos fótons incidentes é espalhada inelasticamente de tal forma que a energia dos fótons espalhados $h\nu_R$ difere dos fótons incidentes $h\nu_0$. De acordo com a lei da conservação da energia, a diferença de energia corresponde à mudança de energia da molécula, que se refere à transição entre dois estados vibracionais. Assim, a diferença energia será:

$$h\nu_0 - h\nu_R = h\nu_f - h\nu_i \quad (7)$$

Encontram-se no mesmo intervalo que as transições avaliadas pela absorção direta de quanta no *IV*-médio, embora fótons de luz ultravioleta, visível ou infravermelho-próximo são utilizados para induzir o espalhamento. Este espalhamento inelástico de fótons foi descoberto por C.V. Raman em 1928, sendo denominado como o efeito Raman (Siebert & Hildebrandt, 2008). A figura 8 mostra um esquema da absorção e espalhamento inelástico de fótons.

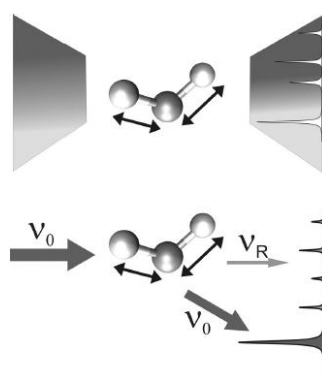


Figura 8 - Ilustração da excitação de vibrações moleculares em espectroscopias IV (superior) e Raman (abaixo) (Siebert & Hildebrandt, 2008).

As técnicas espectroscópicas de Infravermelho e Raman envolvem o estudo da interação da radiação com vibrações moleculares, mas diferem entre si na forma em que a energia dos fótons é transferida para a molécula. Espectroscopia de *IV* mede as transições entre os níveis de energia de vibração molecular, como resultado da absorção da radiação infravermelho médio. Essa interação entre luz e matéria é uma condição de ressonância envolvendo a transição dipolo elétrico entre os níveis de energia vibracional. A espectroscopia Raman é devida ao espalhamento inelástico da luz. O fóton incidente tem energia muito maior do que a energia quântica vibracional, e perde parte da sua energia para a vibração molecular; a energia restante é espalhada por um fóton com frequência reduzida. No caso da espectroscopia de Raman, a interação entre a luz e a matéria é uma condição fora de ressonância, envolvendo a polarizabilidade Raman da molécula (TAGUE Jr., 2007).

Espectroscopias Raman e IV são complementares, geralmente são necessárias para determinar completamente os modos de vibração de uma molécula (Tague Jr., 2007). Conforme Peeran & Srinivasamurthy (2012) em uma molécula com um centro de simetria, é observado que os modos vibracionais que são Raman ativos são IV inativos, e vice-versa. Em moléculas com diferentes elementos de simetria, certas bandas podem ser ativas no IV ou no Raman, em ambas ou em nenhuma técnica. Para uma molécula complexa que não tem simetria, exceto para o elemento de identidade, todos os modos normais são ativos tanto no IV e Raman. No entanto isto não significa que eles possam ser observados.

De acordo com Tague Jr. (2007) os modos vibracionais de IV e Raman são caracterizados pela sua frequência (energia), intensidade (caráter polar ou polarizabilidade), e forma do modo vibracional (tipo de ligações). Uma vez que os níveis de energia de vibração são únicos para cada molécula, o espectro de IV e Raman proporcionam uma "impressão digital" de uma molécula particular. As frequências dessas vibrações moleculares dependem das massas dos átomos, a sua disposição geométrica e a força de suas ligações químicas.

Duas abordagens diferentes são usadas para a interpretação da espectroscopia vibracional:

- 1) utilização de teoria de grupos com cálculos matemáticos das formas e frequências das vibrações moleculares.

- 2) Uso empírico de frequências características químicas de grupos funcionais.

Segundo Siebert & Hildebrandt (2008) a intensidade vibracional é proporcional à probabilidade da transição de uma energia vibracional no nível n para o nível m vibracional, tipicamente (mas não necessariamente), correspondendo a vibração de estados excitados, respectivamente. Para compreender as probabilidades de transições entre os diferentes estados que são induzidos pela interação da molécula com radiação eletromagnética, são

necessários tratamentos mecânicos quânticos. Geralmente, a probabilidade de transição P_{nm} é dada pelo quadrado da integral:

$$P_{nm} = \langle \psi_m | \Omega | \psi_n \rangle \quad (8)$$

Onde ψ_n e ψ_m são as funções de onda para os estados vibracionais n e m , e Ω é o operador que descreve a perturbação da molécula devido a radiação eletromagnética. Este operador é diferente para os processos físicos no IV e no Raman e é obtido pela teoria de perturbação de primeira ordem e de segunda ordem, respectivamente (Siebert & Hildebrandt, 2008).

De acordo com Balachandran & Eror (1982) e Du et al (2006) para a fase rutílio do óxido de Ti existem quatro modos Raman ativos: $A_{1g} + B_{1g} + B_{2g} + E_g$, e quatro modos infravermelho ativos $A_{2u} + 3E_u$. Três outros modos, $A_{2g} + 2B_{1u}$ não são nem Raman nem IV ativos. Para a fase anatásio têm-se os modos: $1A_{1g} + 1A_{2u} + 2B_{1g} + 1B_{2u} + 3E_g + 2E_u$. Os modos A_{1g} , B_{1g} e E_g , são Raman ativos e os modos A_{2u} e E_u são infravermelho ativos. O modo B_{2u} é um modo silencioso, sendo inativo em ambas as técnicas de espalhamento Raman e absorção no infravermelho.

Os valores das frequências e modos vibracionais Raman para os óxidos de Ti estão apresentados na seção 4.3.2.

2.5.5 Nanoindentação

A técnica de nanoindentação (indentação instrumentada) possibilita a investigação de propriedades mecânicas de materiais em dimensões de nanométricas (Li & Bhushan, 2002). A alta resolução em carga e penetração dos equipamentos permite a determinação da dureza (H) e módulo de elasticidade (E) de filmes finos. Além disso, também podem ser obtidas informações sobre a mecânica da fratura na superfícies através do uso da indentação instrumentada (OLIVER & PHARR, 2004).

De acordo com Oliver & Pharr (2004) e Fischer-Cripps (2009), para medir a dureza e módulo de elasticidade de um material utiliza-se a relação entre a profundidade de penetração da ponta e a carga aplicada. Podem ser

realizados ciclos de carregamento e descarregamento para medir as deformações plásticas e elásticas do material. Uma representação esquemática dos parâmetros envolvidos durante o carregamento/descarregamento para uma ponta piramidal é apresentado na figura 9, onde $P_{\text{máx}}$ designa a carga aplicada e h o deslocamento relativo à superfície inicial não deformada. Para fins de modelagem, a deformação durante o carregamento é assumida como sendo elásto-plástica, e durante a descarga os deslocamentos elásticos são recuperados.

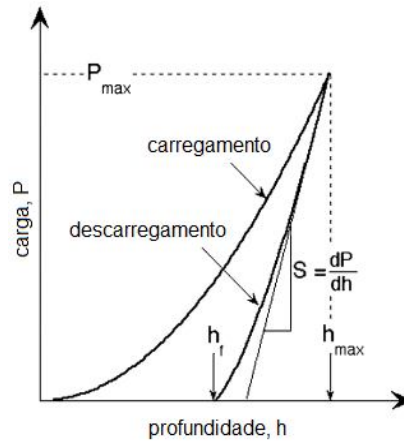


Figura 9- Ilustração esquemática de indentação de carga-deslocamento de dados mostrando importantes parâmetros medidos (OLIVER & PHARR, 2004).

Na curva P-h (figura 9) temos a carga máxima aplicada, $P_{\text{máx}}$ e o deslocamento máximo, $h_{\text{máx}}$. A rigidez elástica do descarregamento, $S = dP/dh$, é definida como a inclinação da parte superior da curva e também é chamada de rigidez de contato. A profundidade final, h_f , corresponde à profundidade residual de penetração após a recuperação elástica (OLIVER & PHARR, (2004); FISCHER-CRIPPS (2009)).

A figura 10 mostra em corte transversal a penetração de uma carga (P) e os parâmetros de profundidades envolvidos na determinação da dureza e do módulo de elasticidade. A profundidade de contato é medida durante o carregamento e representa a profundidade real de contato penetrador/amostra, sendo dada por:

$$h_c = h_{\text{máx}} - \varepsilon \frac{P_{\text{máx}}}{dP/dh} \quad (9)$$

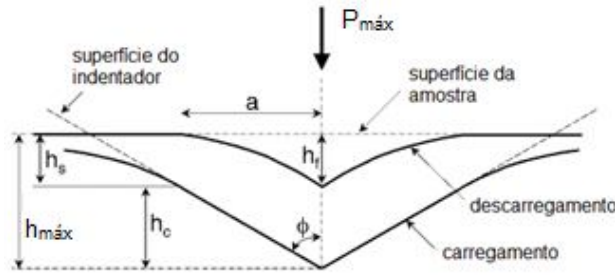


Figura 10 - Ilustração esquemática do processo de descarga mostrando os parâmetros que caracterizam a geometria de contato (OLIVER e PHARR, 2004).

O h_{\max} representa a profundidade total atingida pela carga máxima aplicada (P_{\max}) em relação à superfície. O parâmetro ε depende da geometria do penetrador ($\varepsilon = 0,75$ para penetrador Berkovich). Uma vez que a profundidade de contato h_c é conhecida, podemos conhecer a área de contato (A) de acordo a geometria do indentedor. Usando o método de Oliver & Pharr, (1992) o módulo de elasticidade E e a dureza H são calculados a partir das equações 10 e 11:

$$E^* = \frac{dP}{dh} \frac{1}{2} \frac{\sqrt{\pi}}{A} \quad (10)$$

$$H = \frac{P}{A} \quad (11)$$

Na equação 10, E^* representa o módulo de elasticidade reduzido que por sua vez permite determinar o E do material através de:

$$\frac{1}{E_{ef}} = \frac{1-\nu^2}{E} + \frac{1-\nu_i^2}{E_i} \quad (12)$$

onde ν é o coeficiente de Poisson e i indentedor.

Segundo Fischer-Cripps (2009) para medidas de dureza em filmes finos o objetivo é a obter somente os valores destes e não o comportamento filme/substrato. Dependendo das propriedades filme/substrato, do tipo de penetrador e da espessura do filme, isto pode não ser fácil. Em geral a influência do substrato na dureza pode ser desprezada se a profundidade de penetração é inferior a 10% da espessura do filme. Para o módulo elasticidade

o substrato e o filme contribuem para suportar a carga do penetrador. No entanto, devido à natureza localizada da penetração das indentações, um maior apoio vem do filme do que o substrato, no caso de filmes mais duros que o substrato. Assim, a regra dos 10% não se aplica às determinações do módulo de elasticidade, embora seja razoável esta consideração. Para minimizar este efeito deve-se executar uma série de indentações com cargas muito baixa até atingir cargas relativamente elevadas e, assim a extrapolação dos dados deve resultar num valor de módulo de elasticidade somente do filme.

Determinar o módulo de elasticidade e a dureza por indentação instrumentada não é um processo trivial, uma vez que as profundidades avaliadas podem ser da ordem de μm . Diversos fatores devem ser levados em consideração para que os resultados obtidos não contenham artifícios e erros de interpretação, sendo os mais relevantes: a área em função do indentador, efeito do tamanho da indentação, empilhamento de material deslocado plasticamente em torno da indentação ("pile-up"), afundamento de material (sinking-in), preparação da superfície e rugosidade (OLIVER & PHARR, 2004; de SOUZA, 2011).

De acordo com Frauchiger et al. (2004), Santos Jr (2005) e Games et al. (2012) a dureza e o módulo de elasticidade são características superficiais que permitem a análise do desempenho de filmes finos produzidos para aplicações biomédicas do Ti e suas ligas, uma vez que os implantes são submetidos a diversos esforços mecânicos durante e após a sua colocação.

Saber-Samandari et al. (2010) apontam que o conhecimento do módulo de elasticidade de biomateriais está recebendo o maior interesse pela comunidade devido ao fato que estudos recentes relacionam esta propriedade com a capacidade de adesão celular, portanto, desempenha um papel importante no biomaterial. Como exemplo, foi citado que um estudo recente mostrou que células embrionárias de rato possuem maior movimentação em superfícies com baixo módulo de elasticidade.

3 MATERIAIS E MÉTODOS EXPERIMENTAIS

Neste trabalho foram realizadas modificações superficiais utilizando-se a técnica de oxidação anódica, e tratamento térmico em Ti para aplicações biomédicas. Posteriormente analisaram-se algumas características das camadas obtidas tais como: morfologia, fases dos óxidos de Ti, espessura, rugosidade, propriedades mecânicas e bioatividade.

As técnicas de caracterização empregadas foram:

- Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV,
- Espectroscopia de Energia Dispersiva - EDS,
- Difração de Raios-X nas geometrias Bragg-Bretano e rasante,
- Espectrometria Raman e Infravermelho,
- Indentação instrumentada.

Este capítulo descreve os procedimentos realizados e os parâmetros das técnicas de caracterização utilizadas em cada etapa.

3.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram utilizadas placas de titânio comercialmente puro de grau 2 nas dimensões de (10 x 10 x 1,0) mm. Para proporcionar uniformidade nas superfícies foi realizado lixamento com lixas de carbeto de silício nas granulometrias 320 e 600. Todas as faces das amostras foram lixadas.

Depois de lixadas, as amostras foram lavadas em banhos de ultrassom em três etapas para evitar a presença de contaminantes que pudessem interferir nos processos de anodização. Primeiramente as amostras foram lavadas com acetona, depois com álcool isopropílico e em seguida com água destilada. O tempo de cada etapa de lavagem foi de 15 minutos. Após a lavagem as amostras foram secas a 40°C em uma estufa por 24 horas.

O titânio de referência, sem tratamento, foi lixado e polido para ser utilizado como parâmetro de comparação com as superfícies oxidadas e

tratadas termicamente. Na amostra de Ti-cp de referência foi realizado o polimento mecânico, com lixas de carbetto de silício nas granulometrias 600 e 800. Em seguida foi utilizada pasta de diamante 9 μm , e para obter o acabamento espelhado, empregou-se solução de sílica diluída em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com concentração de 85%.

3.2 OXIDAÇÃO ANÓDICA

O aparato experimental utilizado para a oxidação está na figura 11, que mostra a cuba eletrolítica de acrílico, agitador magnético, contra-eletródo de Ti, amostra de titânio, cabos para conectar a amostra ao pólo positivo da fonte de tensão e a haste de titânio ao pólo negativo, fonte conectada por um cabo USB no computador para registro dos dados de corrente e tensão.

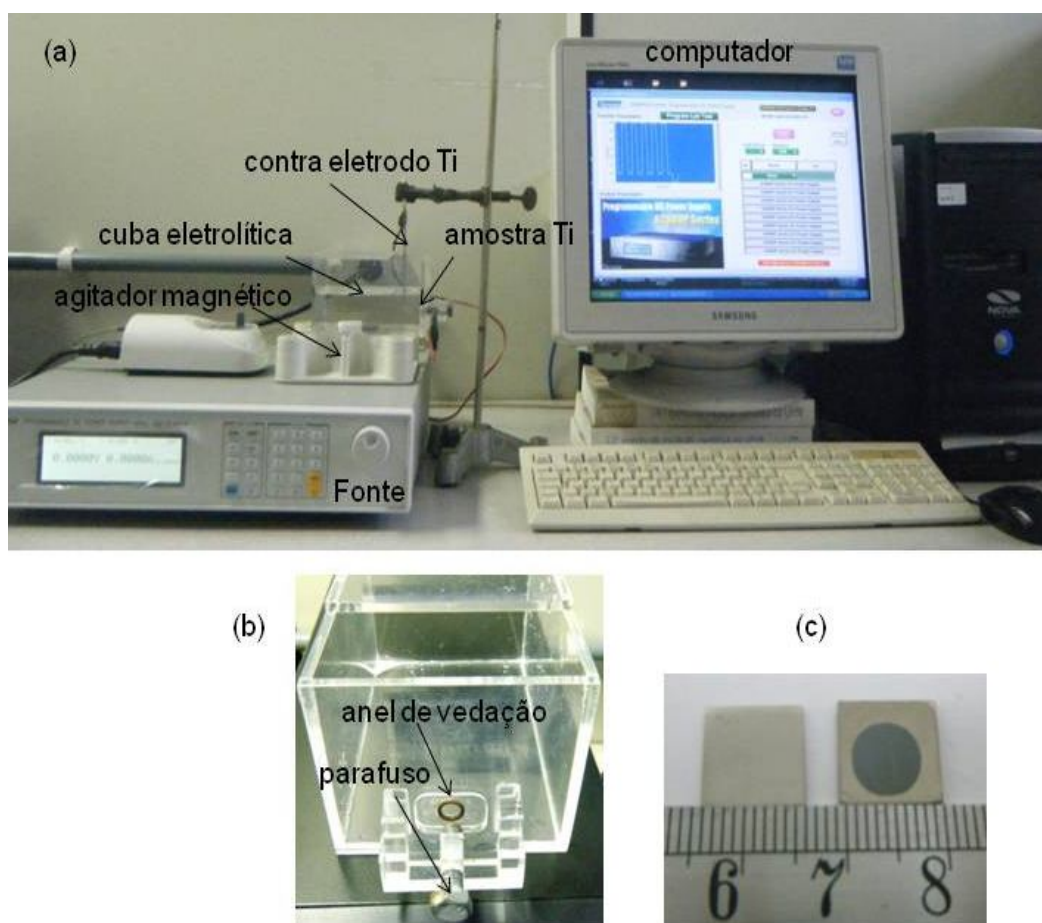


Figura 11 - (a) aparato experimental utilizado para anodização do Ti-cp (b) detalhes da cuba eletrolítica de acrílico (c) dimensões da amostra de Ti antes e após a oxidação

A figura 11.b mostra a face da cuba que contém um orifício circular onde a amostra é fixada, com o auxílio de um parafuso. Um anel de borracha é utilizado para evitar o vazamento do eletrólito. Nesta configuração sempre a mesma área da amostra estará em contato com o eletrólito, independente do tamanho da mesma, é nesta região que a camada será depositada. Na figura 11.c pode ser observada uma amostra antes e após a oxidação anódica. A camada formada na superfície do Ti aparece com a tonalidade cinza, no formato do orifício da cuba.

A solução eletrolítica escolhida foi uma mistura de ácido sulfúrico (H_2SO_4) e ácido fosfórico (H_3PO_4), ambos 1M, em três diferentes proporções de volume:

- a) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4
- b) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4
- c) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4

A quantidade de volume de cada ácido para o preparo das misturas foi determinada de acordo com a capacidade da cuba eletrolítica, que são aproximadamente 400 ml, assim a quantidade de volume nas proporções estabelecidas correspondem a:

- a) 270 ml H_2SO_4 : 135 ml H_3PO_4
- b) 200 ml H_2SO_4 : 200 ml H_3PO_4
- c) 160 ml H_2SO_4 : 240 ml H_3PO_4

Conforme apresentado na revisão bibliográfica sobre a oxidação anódica (seção 2.3) os ácidos sulfúrico e fosfórico são regularmente usados como eletrólitos para a anodização do titânio para aplicações biomédicas, pois a resposta para a anodização do Ti é reprodutível para ambos os ácidos (JAEGGI et al., 2012).

A escolha do eletrólito foi motivada pelo fato de terem sido localizados apenas os trabalhos de Park et al. (2005) e Lee et al. (2006) utilizando como eletrólito misturas de ácidos sulfúrico e fosfórico, e estar consolidada a

anodização em superfícies de Ti com estes eletrólitos utilizados separadamente.

A literatura aponta que bioatividade do titânio está associada aos óxidos de titânio (LI et al., 2004; LIU et al., 2004; YANG et al., 2004; CUI, et al., 2008, 2009; SONG et al., 2009; LILJA et al., 2011; GRIGAL et al., 2012). Dependendo dos parâmetros utilizados para a anodização do titânio, utilizar como eletrólito o com ácido sulfúrico se obtém um filme com as fases dos óxidos de Ti anatásio e rutílio, ou apenas rutílio. Enquanto que com o ácido fosfórico tem-se o crescimento de anatásio, que após passar por tratamento térmico pode se transformar em rutílio (PARK et al., 2007).

A literatura também indica o comportamento típico para a morfologia dos filmes de óxidos, quando utilizado o ácido sulfúrico têm-se poros pequenos e interconectados. Enquanto que se a oxidação é realizada com ácido fosfórico obtém-se poros maiores e espaçados entre si. A morfologia obtida não depende somente dos ácidos, mas também de outras condições de oxidação; como os parâmetros elétricos.

Desta forma, o objetivo da mistura dos ácidos é obter filmes de óxidos bioativos com características individuais dos ácidos sulfúrico e fosfórico, ou seja, com poros maiores e interconectados, e com grande quantidade das fases anatásio e rutílio. Optou-se em manter constante a proporção do volume de ácido sulfúrico, para contribuir no crescimento de poros interconetados e na formação da fase rutílio. Foi alterado o volume do ácido fosfórico, para analisar o crescimento e possíveis alterações nos tamanhos dos poros arredondados e a formação de anatásio; que poderá se transformar em rutílio após o tratamento térmico.

As anodizações foram realizadas em temperatura ambiente utilizando um contra eletrodo de titânio durante um intervalo de tempo de 60 s a 180 V, pois estes parâmetros já estão consolidados na literatura para ambos os ácidos quando utilizados separadamente.

As soluções eletrolíticas foram agitadas com agitador magnético durante todo o processo de anodização. A agitação da solução eletrolítica é

fundamental, pois mantém o eletrólito em movimento e evita a permanência de bolhas no orifício diante da superfície da amostra, que podem isolá-la e interromper o contato elétrico, e consequentemente, o crescimento da camada.

A Figura 12 apresenta o gráfico da variação da tensão em função do tempo durante a anodização para a amostra na condição 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 , as outras duas condições apresentaram o mesmo comportamento para a tensão em função do tempo, não sendo aqui apresentadas. É possível constatar que a anodização foi realizada no modo potencioestático, pois rapidamente a tensão atinge o valor estabelecido (180 V) e se mantém constante até o limite máximo de tempo (60s) da anodização.

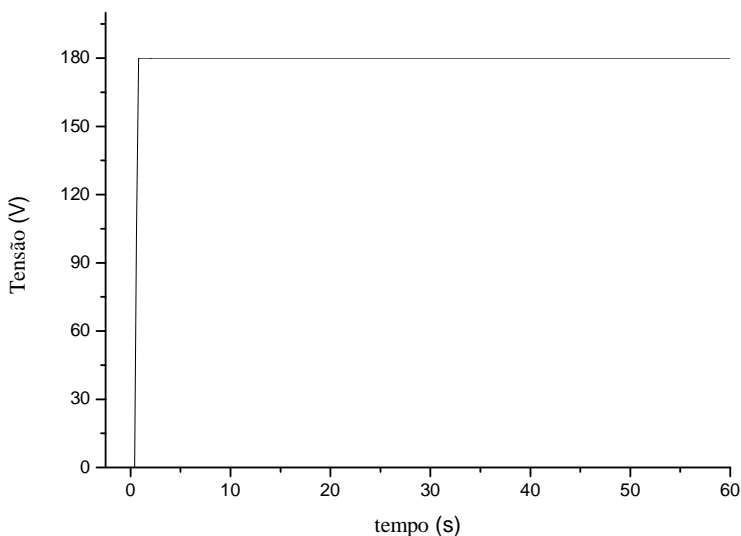


Figura 12 - Gráfico representativo de tensão *versus* tempo de anodização para a oxidação anódica na condição 1 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4

A variação da corrente foi registrada em intervalos de 0,2 s; mantendo a tensão constante, até o processo de anodização ser finalizado. Na figura 13 são apresentados estes resultados para as três condições de anodização.

Para facilitar a apresentação e leitura dos gráficos de corrente e para todas as técnicas de caracterização utilizadas (DRX, Espectroscopias micro-Raman e IV , nanoindentação), cada condição de anodização foi associada a uma cor, sendo:

- a) 1,0 H₂SO₄: 0,5 H₃PO₄ = **preto**
- b) 1,0 H₂SO₄: 1,0 H₃PO₄ = **vermelho**
- c) 1,0 H₂SO₄: 1,5 H₃PO₄ = **verde**

Na figura 13 verifica-se que basicamente nas anodizações a corrente rapidamente atinge o valor máximo e a partir de aproximadamente 5s permanece muito próximo a zero (0,005 A) até o final do processo eletroquímico. Esta observação indica que as camadas anódicas crescem rapidamente, tornando a superfície dielétrica e interrompendo o processo anódico.

Em todas as condições de anodização ocorreu um centelhamento mínimo, sendo um pouco mais expressivo na condição intermediária (1,0 H₂SO₄: 1,0 H₃PO₄), na qual se observa um pico pequeno de corrente entre 4 e 6 segundos.

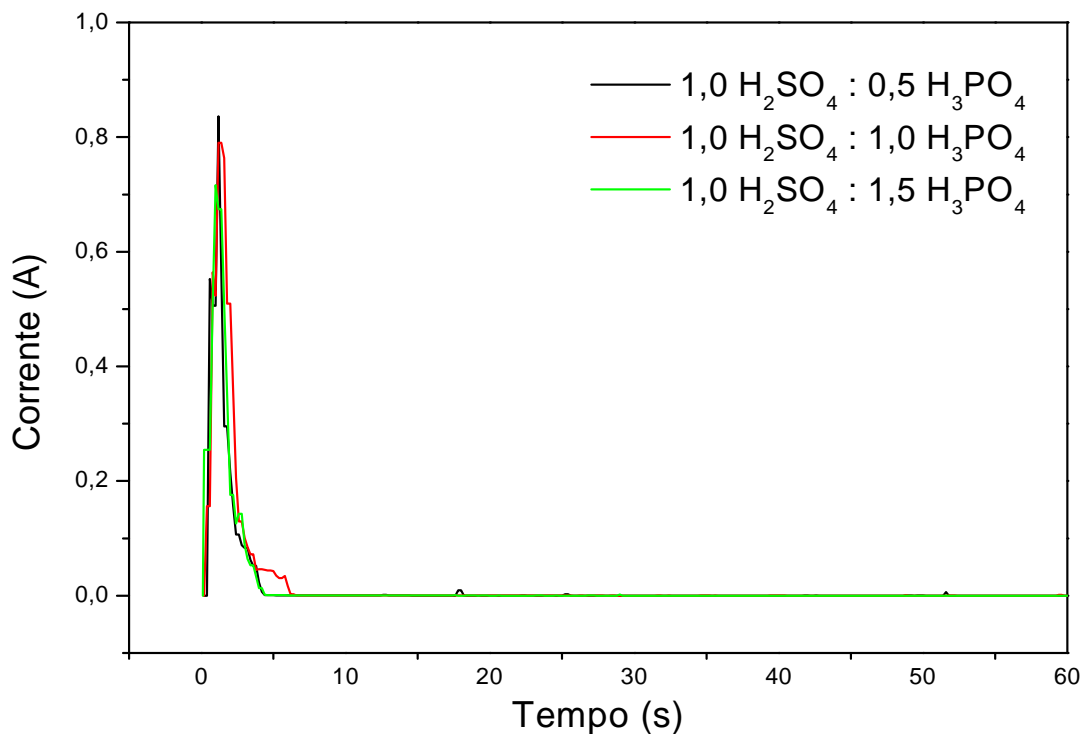


Figura 13 - Variação da corrente em função do tempo

Após a oxidação, as amostras foram lavadas em água destilada e submetidas a tratamento térmico em forno tipo mufla, em atmosfera aberta. A

taxa de aquecimento foi de 5°C/min até 600°C, mantidas nessa temperatura por 1 hora e após, deixadas esfriar no forno até atingir a temperatura ambiente. Este tratamento térmico tem por objetivo melhorar as propriedades mecânicas, a adesão do filme ao substrato de Ti e modificação das fases dos óxidos de Ti.

A temperatura (600°C) foi escolhida por apresentar resultados favoráveis para a bioatividade (YANG et al., 2004; PARK et al., 2007; CUI et al., 2008).

3.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E MICROESTRUTURAL DAS AMOSTRAS

3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microanálise de raios-X por espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

A morfologia das amostras antes e após a oxidação foi avaliada de forma qualitativa utilizando a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV. As magnificações das imagens obtidas foram de 500, 1.000, 3.000 e 15.000 vezes. A incorporação dos elementos do eletrólito na camada foi determinada através dos espectros EDS gerados a partir das imagens MEV com magnificação de 500 X. O equipamento utilizado foi o Jeol JSM-6360LV, disponível no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná.

3.3.2 Espectroscopia Infravermelho

Para identificar os grupos funcionais, correspondentes aos elementos observados por EDS nas amostras oxidadas e tratadas termicamente, foi utilizada a técnica de espectroscopia Infravermelho. As medidas foram realizadas no Laboratório Multiusuário da Universidade Estadual de Ponta Grossa, com o equipamento IR Prestige-21. Os espectros foram obtidos no modo absorbância com o acessório, DRS-8.000A, de refletância difusa com número de scan 64, resolução de 4,0 e range 400-4.000 cm^{-1} , com laser He-Ne.

3.3.3 Difração de Raios-X

A técnica de difração de raios-X (DRX) foi utilizada para identificar as fases dos óxidos de titânio produzidas na superfície pela oxidação anódica e para avaliar a eficiência do tratamento térmico. Foram realizadas medições de DRX nas amostras apenas oxidadas, e nas amostras oxidadas e tratadas termicamente.

As medições foram realizadas no equipamento Rigaku - Ultima IV, no Laboratório Multiusuário da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Os difratogramas são do tipo θ - 2θ na geometria Bragg-Bretano, e na geometria rasante com θ fixo de $1,5^\circ$.

A fonte de raios-X operou sob 40 kV e 30 mA contra um alvo de cobre (radiação $\text{CuK}\alpha = 1,5418 \text{ \AA}$), entre 20° e 65° em step scan de $0,02^\circ$ - 10 s.

Os difratogramas obtidos foram comparados com os difratogramas das amostra de referência (titânio grau 2, pastilha de rutilio, pastilha de rutilio com anatásio, pastilha de hidroxiapatita com granulometria 1.000, pastilha de hidroxiapatita com granulometria 1.200 e pó de hidroxiapatita).

Os difratogramas das amostras de referência e os difratogramas das amostras oxidadas e submetidas ao tratamento térmico foram comparados com padrões JCPDS (JCPDS, 1995), com o auxílio do software Crystallographica Search-Match (Oxford Cryosystems, 1996-2004).

3.3.4 Espectroscopia micro-Raman

A técnica de espectroscopia micro-Raman foi utilizada para o mapeamento químico das superfícies modificadas através da identificação dos óxidos formados pelo processo de anodização e tratamento térmico.

As medições foram realizadas no equipamento Bruker - Senterra com microscopia ótica acoplada, no Laboratório Multiusuário da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Os espectros foram obtidos com laser verde, gasoso He-Ne, de 532 nm fixo, com spot size de $2 \mu\text{m}$, potencia de 10 mW com

tempo de aquisição de 10 s e integração de três aquisições, e alta resolução ($0,1 \text{ cm}^{-1}$) de 49 a 1549 cm^{-1} .

Para auxiliar na identificação dos espectros micro-Raman das amostras oxidadas, foram feitas medidas em amostras de referência: pastilha de rutílio e pastilha de rutílio com anatásio. A identificação dos modos e frequências de vibração dos espectros micro-Raman foi determinada comparando-se com dados disponíveis na literatura (BALACHANDRAN & EROR, (1982); FRAUCHIGER et al., (2004); MA et al., (2007); SOARES et al., (2007); JAEGLI et al., (2012) e em base de dados disponível em sites da internet (<http://www.fis.unipr.it/>, <http://www.obs.univ-bpclermont.fr> e <http://ruff.info/>).

3.3.5 Determinação da espessura e rugosidade das camadas de óxidos de Ti

As medidas da espessura e de rugosidade (R_a) das camadas foram determinadas a partir dos perfis de superfície obtidas no perfilômetro mecânico Veeco - Dektak 150 do Laboratório de Dispositivos Nanoestruturados - DiNE do Departamento de Física da Universidade Federal do Paraná.

A rugosidade média (R_a) é uma medida usada na área de biomateriais e é usualmente analisada em duas dimensões. A rugosidade média (R_a) representa a média dos módulos das alturas dos picos e vales em relação a uma linha média. Outro parâmetro de rugosidade é o R_q (rugosidade média quadrática), que determina o valor da raiz quadrada média da rugosidade correspondente à R_a .

Os perfis de superfície foram determinados para três diferentes amostras de cada condição. A rugosidade (R_a) das superfícies foram medidas em 5 diferentes regiões da superfície de cada amostra. Os valores apresentados correspondem à média destas medidas.

As espessuras das camadas foram estimadas pelo degrau formado entre o substrato Ti e a camada anódica. Devido à rugosidade do material, a altura do degrau foi determinada pela média das alturas dos picos e vales. As varreduras foram realizadas sobre toda a camada de óxido, iniciando e

finalizando no substrato Ti-polido. Os resultados apresentados correspondem as varreduras de 1,5 mm, que representam o comportamento de toda a camada.

3.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS

As medidas de dureza, módulo de elasticidade foram obtidas por indentação instrumentada segundo o método de Oliver e Pharr, (1992). Os ensaios de nanoindentação foram realizados no Laboratório de Propriedades Nanomecânicas usando o equipamento Nano Indenter XP (MTS Instruments), da Universidade Federal do Paraná.

A carga máxima aplicada foi de 400 mN em oito ciclos sucessivos de carga/descarga por meio de um penetrador Berkovich. Para minimizar os efeitos de rugosidade e porosidade das amostras, para cada amostra foram realizadas 36 indentações com distância de 100 µm entre si, formando uma matriz 6x6. Devido à alta rugosidade alguns resultados discrepantes foram excluídos das análises dos testes de nanoindentação, sendo que são apresentados as médias de todos os testes considerados válidos.

3.5 BIOATIVIDADE

As amostras oxidadas e tratadas termicamente foram submetidas a teste de bioatividade *in vitro* utilizando solução simuladora de fluido corpóreo - SBF preparado conforme o protocolo de Kokubo & Takadama, (2006). Os reagentes utilizados para a preparação do SBF estão indicados na tabela 4.

TABELA 4 - REAGENTES QUÍMICOS PARA PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO SBF

Reagente	Nome	Quantidade/L
NaCl	Cloreto de sódio	8,035 g
NaHCO ₃	Bicarbonato de sódio	0,355 g
KCl	Cloreto de potássio	0,225 g
K ₂ HPO ₄ 3H ₂ O	Potássio fosfato bibásico anidro	0,231 g
MgCl ₂ 6H ₂ O	Cloreto de magnésio	0,311 g
HCl 1mol/L	Ácido clorídrico	39 mL
CaCl ₂	Cloreto de cálcio	0,292 g
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio	0,072 g
C ₄ H ₁₁ NO ₃	Tris - (hidroximetil) amino metano	6,118 g

FONTE: (KOKUBO & TAKADAMA 2006).

Devido às amostras terem uma superfície rugosa foi utilizado o volume de 50 ml da solução SBF. As amostras foram imersas em tubos falcon contendo 50 ml de SBF (fig. 14 a), e permaneceram durante 30 dias em uma incubadora (fig. 14 b) com temperatura aproximadamente de 37°C.



Figura 14 - (a) tubos falcon com amostras e SBF (b) incubadora.

As caracterizações química e microestrutural da nucleação da HA, após o término do ensaio de bioatividade, foram realizadas com diferentes técnicas:

- a) Análise utilizando MEV, para verificação da formação da camada de HA, obtendo-se imagens com magnificações de 500, 1.000, 3.000 e 15.000 X;
- b) Análise EDS para determinar o teor de cálcio e fósforo a partir das imagens MEV com magnificação de 500X;
- c) Difração de raios-X na geometria Bragg-Bretano com θ -2 θ e na geometria rasante com θ fixo de 1,5°, para o mapeamento da HA;
- d) Infravermelho, para o mapeamento da HA;
- e) Espectroscopia micro-Raman também para o mapeamento da HA e no estudo do perfil de profundidade da camada de HA. O perfil de profundidade

da camada de HA foi realizado em um único ponto (P) de cada amostra, o primeiro espectro foi obtido com o foco na superfície da amostra e os demais a cada 2 μm , totalizando 6 camadas (C_1, C_2, \dots, C_6) e profundidade de 10 μm . A figura 15 apresenta o modelo representativo das medidas do perfil de profundidade.

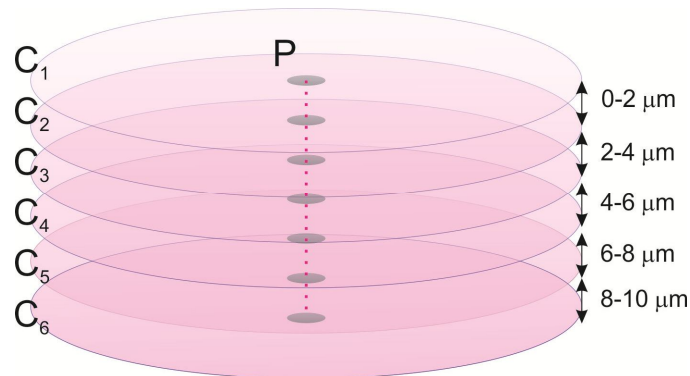


Figura 15 - Modelo representativo do procedimento utilizado nas medidas do perfil de profundidade. As medidas em profundidade correspondem a distância focal da superfície 0 μm até 10 μm .

f) Nanoindentação para medidas de dureza e módulo de elasticidade da camada de HA.

Para auxiliar na identificação dos espectros micro-Raman e Infravermelho das amostras que foram submetidas aos ensaios de bioatividade, foram feitas medidas em amostras de referência: pó de hidroxiapatita, pastilha de hidroxiapatita com granulometria 1.000, pastilha de hidroxiapatita com granulometria 1.200.

Os modos e frequências de vibração dos espectros micro-Raman e Infravermelho foram determinadas da mesma forma que os espectros das amostras anodizadas.

Os equipamentos e parâmetros utilizados foram os mesmos descritos para a determinação dos óxidos de titânio.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão apresentados os resultados e suas discussões baseando-se nos dados experimentais e da literatura. A organização está conforme as técnicas de caracterização utilizadas (MEV, EDS, espectroscopia no Infravermelho, DRX, espectroscopia micro-Raman e nanoindentação).

4.1 MORFOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

A figura 16 mostra a imagem de MEV do Ti-cp lixado, observa-se apenas os riscos provenientes do processo de lixamento, cuja superfície final já é rugosa devido a esse procedimento.

As micrografias (fig.17 a-f) mostram as superfícies anodizadas e tratadas termicamente.

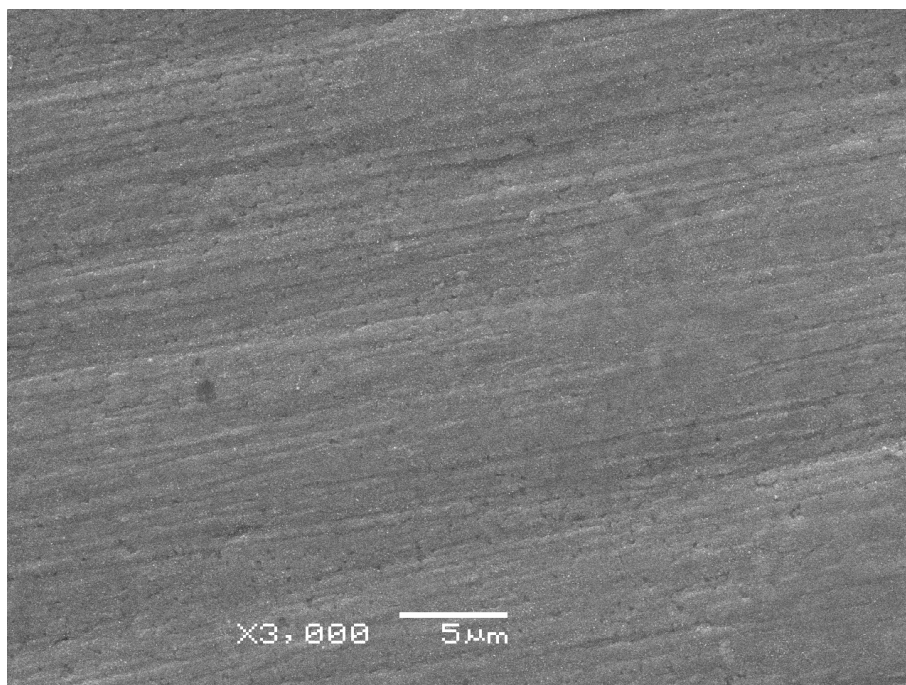


Figura 16 - MEV Morfologia: titânio lixado

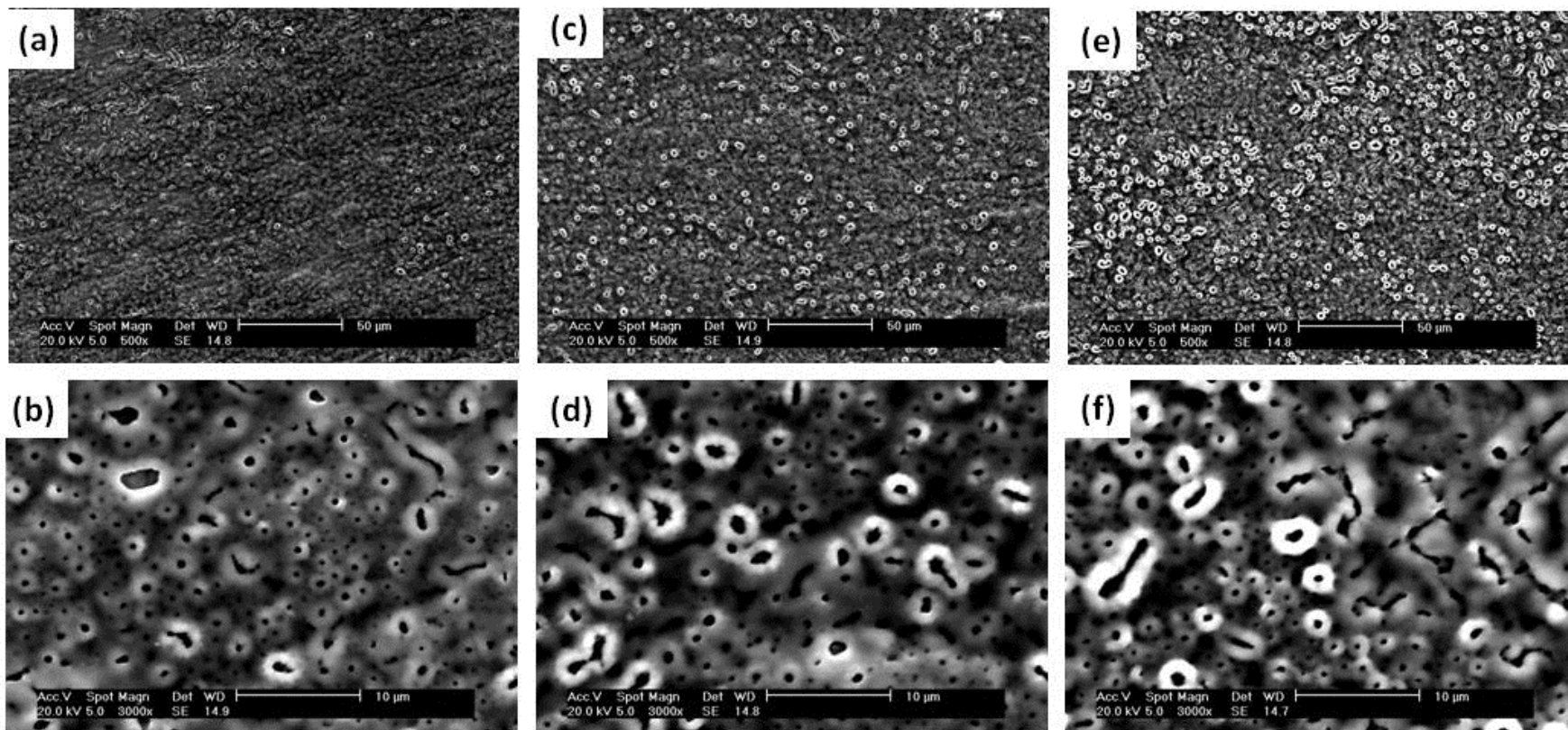


Figura 17 - MEV Morfologia amostras oxidadas e com tratamento térmico com aumento de 500x e 3.000x: (a, b) 1,0 $\text{H}_2\text{SO}_4: 0,5 \text{H}_3\text{PO}_4$ (c, d) 1,0 $\text{H}_2\text{SO}_4: 1,0 \text{H}_3\text{PO}_4$ (e, f) 1,0 $\text{H}_2\text{SO}_4: 1,5 \text{H}_3\text{PO}_4$

É possível verificar (fig. 17) que a anodização e o tratamento térmico modificaram a morfologia da superfície do Ti lixado. Observa-se a formação de superfícies rugosas, independentemente da proporção de volume da mistura dos ácidos fosfórico e sulfúrico. As camadas anódicas são compostas de poros arredondados e alongados, com tamanhos variados e distribuídos uniformemente sobre a superfície, e que com o aumento do ácido fosfórico na proporção do eletrólito uma maior quantidade de poros de maior diâmetro foi formada.

De acordo com Lee et al. (2006) o ácido fosfórico concentrado faz com que o filme anódico cresça mais rapidamente e facilmente incorpore as espécies químicas do eletrólito. Este comportamento é confirmado pela morfologia da primeira condição de oxidação (Fig.17 a), na proporção 1,0 M H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 em que há uma menor quantidade de ácido fosfórico. Observa-se que esta camada de óxido anódico apresenta uma menor quantidade de poros, que se orientam segundo a topografia existente antes da oxidação. Os riscos deixados pelo processo de lixamento ainda são evidentes.

A morfologia aqui observada é muito similar a obtido por Park et al. (2005) e Lee et al. (2006), que também anodizaram o Ti-cp com mistura de ácido sulfúrico e fosfórico, utilizando tempos maiores de anodização (30 minutos e 1 hora, respectivamente), enquanto que neste trabalho o processo de oxidação anódica ocorreu em apenas 60 segundos. Mais ainda, a morfologia observada no presente trabalho apresenta similaridade com as observadas por Soares et al. (2007) que utilizou 1.4M H_3PO_4 em duas densidades de corrente diferentes (15 e 30 mA/cm²) durante 1 minuto.

Segundo Bryers et al. (2012) materiais porosos ou morfologicamente irregulares apresentam melhor osseointegração, pois a superfície de contato é maior do que o mesmo material de superfície lisa e não porosa. Conforme Gao et al (2012) camadas com estrutura porosa interconectada permitem o osso crescer internamente ao implante e realizar transporte de fluido corporal. Portanto, as condições de anodização analisadas neste trabalho podem favorecer uma morfologia de superfície com poros e consequentemente mais adequada para a interação osso – implante.

A morfologia das amostras não submetidas a tratamento térmico posterior a anodização, também foram observadas por MEV. Estas amostras não apresentaram alterações significativas na superfície em comparação às que foram tratadas termicamente. A morfologia e a presença/distribuição dos poros são muito semelhantes. Esta observação está de acordo com as obtidas por Cui et al. (2008) que também não verificaram diferenças na morfologia em filmes de óxidos anódicos na superfície de titânio antes e após o tratamento térmico.

A figura 18 mostra os espectros EDS das amostras oxidadas e tratadas termicamente, não há diferenças significativas entre as condições da mistura dos ácidos. Observa-se picos correspondentes ao substrato de titânio, carbono, fósforo e oxigênio.

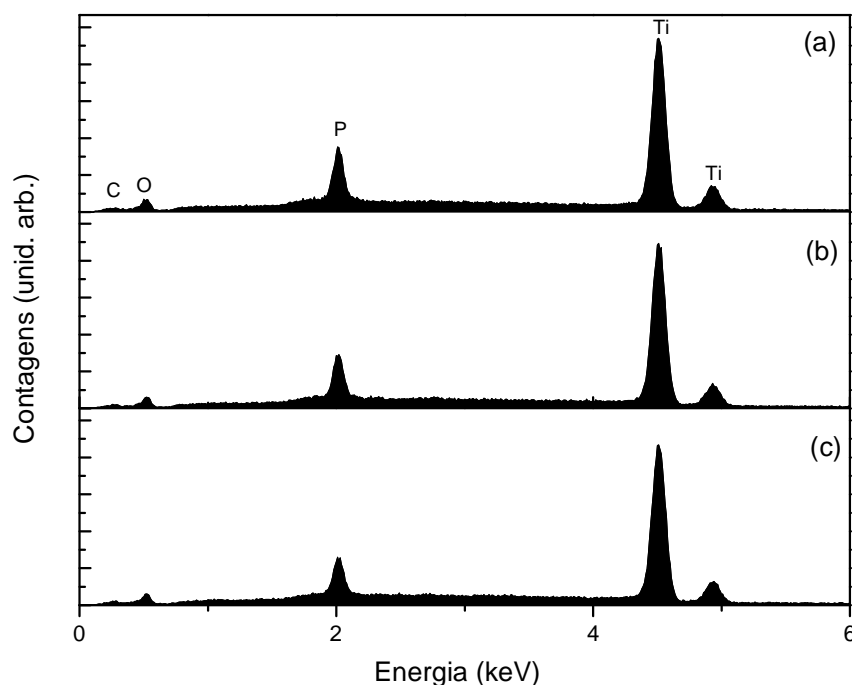


Figura 18 - Espectros EDS das amostras oxidadas e com tratamento térmico (a) 1,0 H₂SO₄: 0,5 H₃PO₄ (b) 1,0 H₂SO₄: 1,0 H₃PO₄ (c) 1,0 H₂SO₄: 1,5 H₃PO₄

O carbono presente deve-se muito provavelmente a uma contaminação na superfície devido ao processo de lixamento e lavagem em ultra-som.

A presença do fósforo confirma a incorporação do mesmo durante o processo de anodização. Segundo Lee et al. (2006) a incorporação de fosfatos indica que espécies carregadas negativamente (HPO_4^- e PO_4^-) na superfície de óxido de titânio podem favorecer a nucleação de fosfato de cálcio pela interação atrativa com os íons Ca^{2+} presentes na solução simuladora fluido corpóreo (SBF).

A presença do oxigênio é esperada, pois durante a oxidação tem-se a formação de TiO_2 . Entretanto, o oxigênio também pode estar relacionado com a presença dos grupos funcionais de fosfatos e hidroxila.

A figura 19 mostra os espectros no infravermelho, onde estão identificados os grupos funcionais correspondentes aos elementos observados por EDS (fig.18).

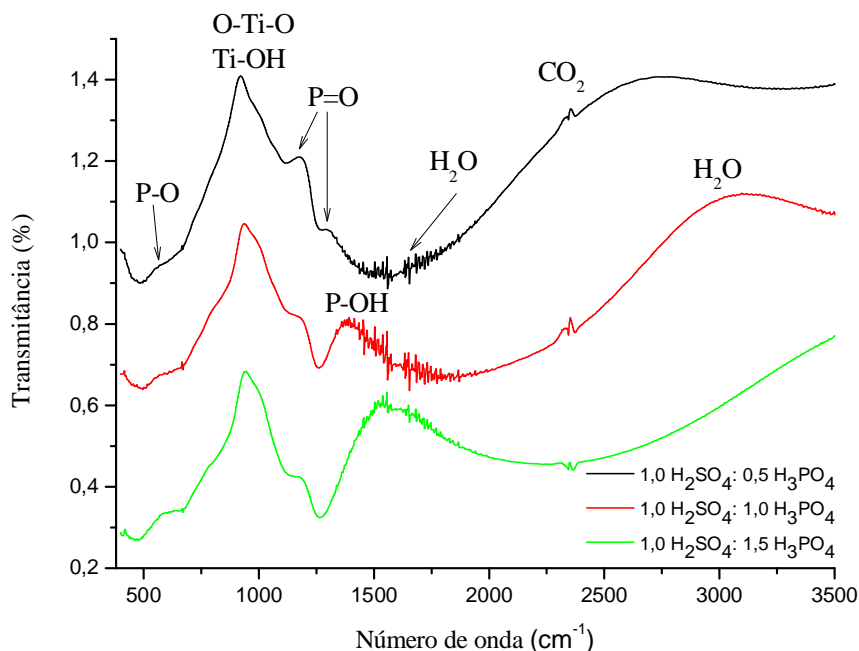


Figura 19 - Espectros infravermelho: identificação dos grupos funcionais presentes nas amostras oxidadas e com tratamento térmico.

As vibrações das ligações O-Ti-O ocorrem entre 400 e 600 cm^{-1} que não são observáveis devido à presença da banda larga do grupo PO que ocorre na mesma região. Entre 900-1.100 cm^{-1} há uma contribuição das vibrações das ligações O-Ti-O e Ti-OH, que ocorrem neste intervalo (COSTA,

2009). Na região entre 1.140 e 1.320 cm^{-1} observam-se ombros correspondentes a ligação P=O (LARKIN, 2011).

Apenas para a condição 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 , verifica-se o pico largo em 1.407 cm^{-1} devido à vibrações no plano das ligações P-OH, e a presença de um pico largo na região de 3.000 cm^{-1} referente a adsorção de água (COSTA, 2009; LARKIN, 2011). A presença de íons hidroxila possibilita uma maior interação da superfície com o meio fisiológico, o que poderá favorecer a formação de HA para esta condição de anodização (1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4).

Na região entre 1600-1700 cm^{-1} há contribuições de água adsorvida. A presença de CO_2 ocorre próximo a 2350 cm^{-1} (COSTA, 2009; LARKIN, 2011).

Jaeggi et al., (2012) relatam que óxidos anódicos produzidos em ácido sulfúrico e ácido fosfórico levam a uma absorção dos ânions dos eletrólitos sob a forma de sulfatos e fosfatos. Porém, em todas as camadas de óxidos anódicos produzidos neste trabalho incorporou-se apenas fosfatos, não sendo identificada a incorporação de sulfatos.

A incorporação de fosfatos indica que este é o agente oxidante da superfície do titânio. Segundo Mahan & Myers, (1995) os processos de oxidação-redução envolvem uma competição relativa por elétrons entre as diversas substâncias, e o ácido sulfúrico como agente oxidante, é bastante fraco em soluções 1M. Assim tem-se um indicativo de que as propriedades oxidantes do grupo sulfato se tornam desprezíveis frente ao ácido fosfórico.

De acordo com os modelos (fig.4) de Jaeggi et al. (2012) para o crescimento de filmes anódicos em ácido sulfúrico e fosfórico (sem misturar), o crescimento dos óxidos produzidos em ácido sulfúrico se iniciam na parte exterior do Ti, enquanto o ácido fosfórico na interface Ti/TiO₂. Assim nas misturas dos ácidos sulfúrico e fosfórico, possivelmente o ácido fosfórico age na interface Ti/TiO₂ formando os poros e restringindo a interação do ácido sulfúrico na parte exterior do Ti-cp.

4.2 ESPESSURA E RUGOSIDADE

A figura 20 mostra o degrau formado entre o substrato Ti polido e a camada anódica nos perfis das superfícies das amostras nas diferentes condições de anodização. São apresentadas as varreduras correspondentes a 1,5 mm, que correspondem ao comportamento geral de todas as camadas. A tabela 5 mostra a média dos valores da rugosidade R_a .

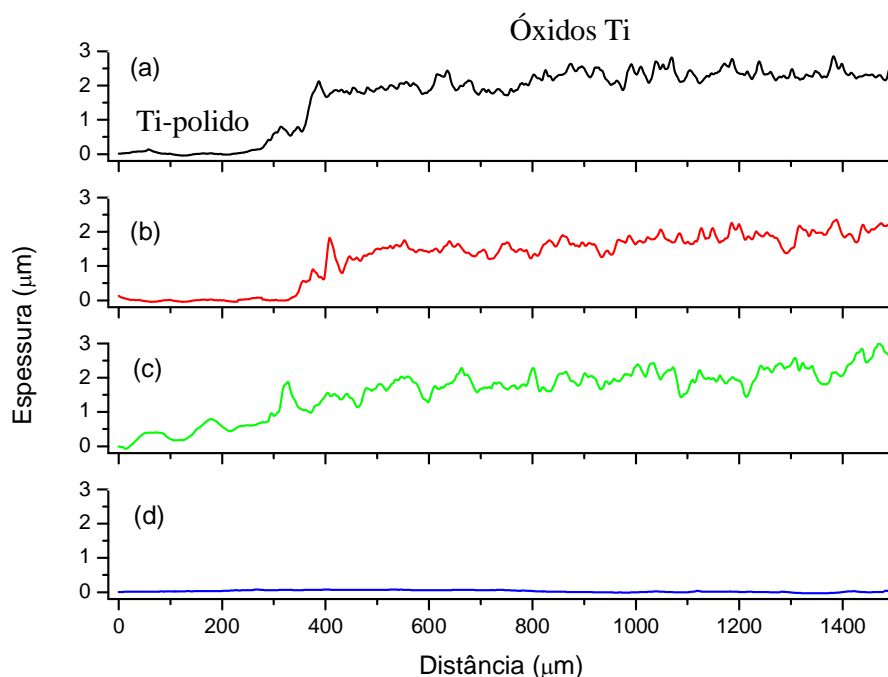


Figura 20 - Perfis da superfície: (a) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (b) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (c) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 (d) Ti polido.

Cabe ressaltar que os perfis de superfície foram determinados em amostras com o substrato de Ti polido, assim os riscos observados através da micrografia MEV (fig.17a) para a condição de anodização 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 , não contribuem nos valores obtidos, sendo estes correspondes apenas as camadas de óxidos.

A espessura média das camadas anódicas, independente da mistura dos ácidos, foi estimada em torno de 2 μm . Os valores da espessura são da mesma ordem de grandeza com o apresentado na literatura para filmes anódicos, 1,7 μm com eletrólito de ácido fosfórico sob 250 V (KUROMOTO et

al. 2007), $(3,6 \pm 0,3) \mu\text{m}$ e $(4,1 \pm 0,5) \mu\text{m}$ com eletrólito contendo cálcio e fósforo sob 150 mA/cm^2 e 300 mA/cm^2 , respectivamente, (de SOUZA et al. 2010).

TABELA 5: RUGOSIDADE DAS CAMDAS DE ÓXIDOS ANÓDICOS

Amostra	Rugosidade R_a (nm)
Ti - polido	36 ± 10
1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4	199 ± 14
1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4	164 ± 11
1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4	193 ± 17

Os valores de rugosidade para o Ti-polido está de acordo com os valores de Szesz (2010) $(44 \pm 15) \text{ nm}$ e de Souza (2010) $(19 \pm 6) \text{ nm}$. A literatura aponta valores variáveis para a rugosidade de filmes de óxidos anódicos, dependendo do acabamento superficial e das condições utilizadas (eletrólito, e sua concentração, tempo de anodização, parâmetros elétricos, temperatura): 320 a 250 nm Liu et al. (2012), $(436 \pm 53) \text{ nm}$ Szesz (2010), $(370 \pm 5) \text{ nm}$ e $(820 \pm 2) \text{ nm}$ de Souza et al., (2011), 260 a 3091 nm Ou et al. (2009), 220nm e 730 nm Park et al. (2005), sendo este último referente a filmes anódicos com a mistura de ácido sulfúrico e fosfórico. Porém, os parâmetros de rugosidade podem depender também do equipamento utilizado tornando-se difícil a comparação de valores entre diferentes publicações (SANTOS, Jr., 2005).

Conforme Elias et al. (2012), para se analisar a capacidade de uma superfície de Ti ser osseointegrável é necessário analisar a morfologia da superfície em dimensões de macro, micro e nanomicroestrutura, bem como a homogeneidade da superfície, as propriedades químicas e físicas. Uma vez que a combinação de rugosidade de superfície em escala micro e sub-micro com uma alta densidade de estruturas em nanoescala resultam em um aditivo na diferenciação celular e produção de fatores locais.

Segundo de Souza (2010) a porosidade e rugosidade contribuem para a ancoragem de núcleos de hidroxiapatita, os quais precedem a formação da

camada de HA. De acordo com Li et al. (2004) e Games et al. (2012) o aumento da rugosidade superficial pode contribuir para melhorar a interligação mecânica entre o implante e o tecido ósseo. Segundo Geetha et al. 2009, a rugosidade e as características químicas desempenham um papel importante no desenvolvimento da osseointegração, evitando micromovimentos que resultam no “afrouxamento” do implante. Assim, materiais com uma superfície apropriada são essenciais para a interação do implante com o tecido ósseo.

4.3 FASES DOS ÓXIDOS DE TITÂNIO

4.3.1 Difração de Raios-X

A figura 21 apresenta os difratogramas de DRX na geometria θ - 2θ para os padrões de referência de titânio e de óxidos de titânio (rutílio e anatásio). Os picos de difração estão em concordância com os seguintes arquivos JCPDS: titânio PDF nº 44-1294, anatásio PDF nº 21-1271 e rutílio PDF nº 21-1246.

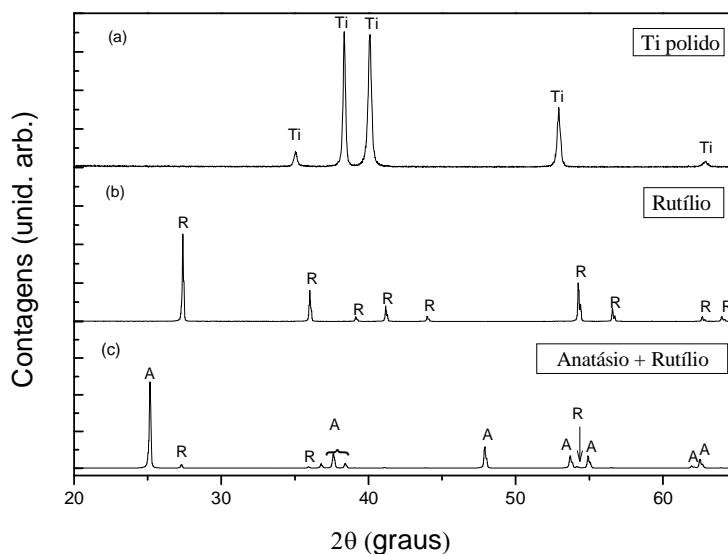


Figura 21 - Difratograma de Raios-X: (a) titânio grau 2 polido, (b) pastilha de rutílio, (c) pastilha de rutílio com anatásio. Sendo: Ti = titânio, A = anatásio, R = rutílio.

A figura 22 mostra os difratogramas de DRX para as amostras oxidadas, e para as amostras oxidadas e tratadas termicamente (oxidação + TT), sendo a figura 22.A correspondente a geometria θ - 2θ e a figura 22.B na geometria rasante com θ 1,5°.

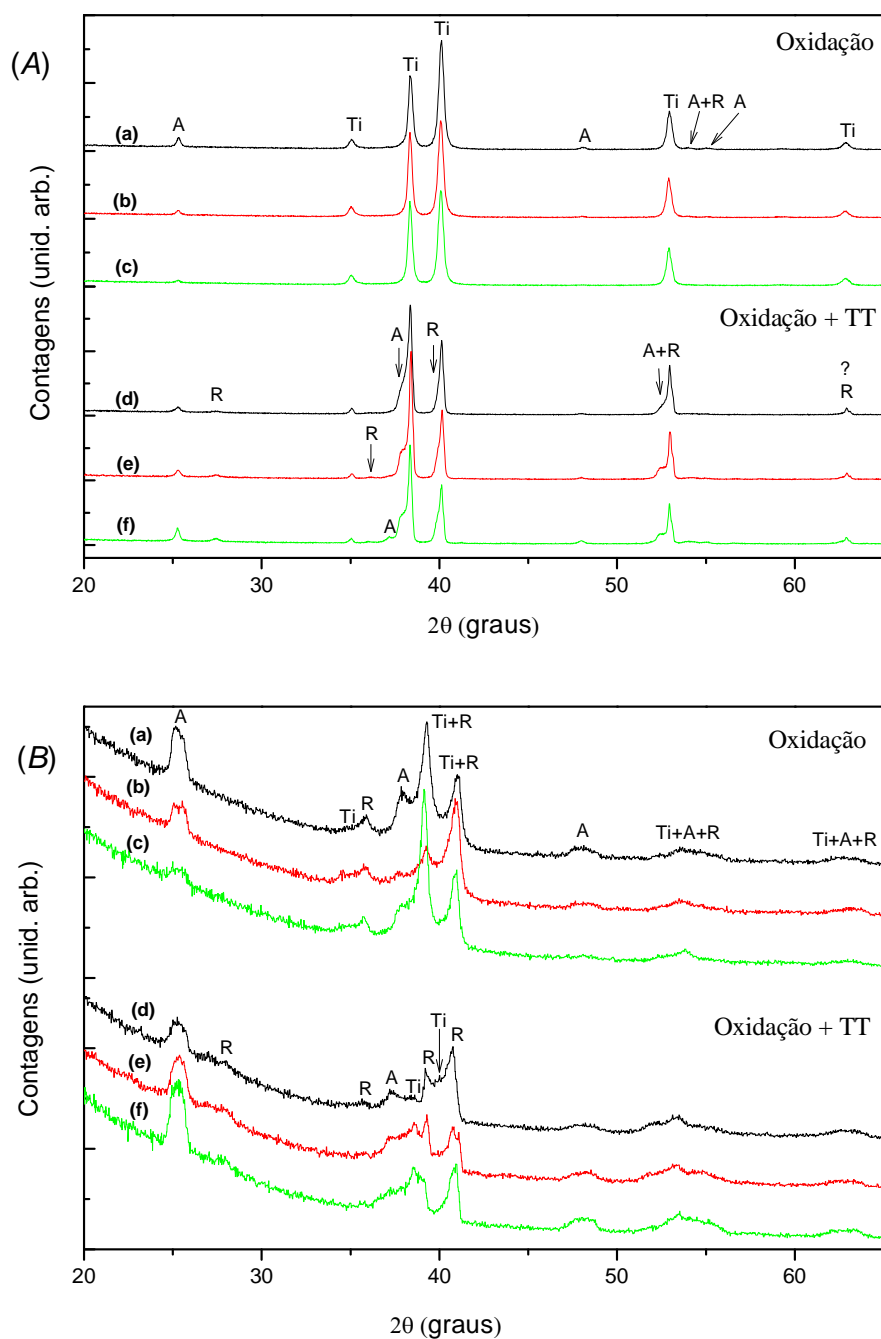


Figura 22 - (A) Difratoograma de Raios-X θ - 2θ , (B) Geometria com ângulo rasante $\theta = 1,5^\circ$. Para ambas configurações: Oxidação (a) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (b) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (c) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 , oxidação e tratamento térmico (d) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (e) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (f) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 . Sendo: Ti = titânio, A = anatásio, R = rutílio.

Os difratogramas na geometria Bragg-Bretano mostram a contribuição do substrato de Ti e indícios das fases dos óxidos anatásio e rutilo; que após o tratamento térmico se tornam mais evidentes (25° a 27° , 36° a 37°). Observam-se alargamentos e formações de ombros nos picos de titânio (38.4° , 40° e 53°) devido ao crescimento dos óxidos. A região em 63° torna-se mais aguda, possivelmente indicando uma separação do que se refere a pico Ti e de rutilo. Entretanto, é muito difícil afirmar se esta região corresponde apenas ao titânio e/ou rutilo; de acordo com Cullity (1978) em uma mistura de fases não é possível a identificação de uma fase específica.

Nos difratogramas na geometria rasante (figura 22.B) a difração ocorre numa região mais próxima da superfície, fornecendo informações mais significativas sobre os compostos na superfície (óxidos de Ti) do que as informações do substrato de Ti.

Os difratogramas na geometria rasante das amostras oxidadas, exceto o pico de rutilo próximo a $\theta = 27^\circ$, apresentam as mesmas informações que os difratogramas das amostras oxidadas e tratadas termicamente na geometria θ - 2θ (fig. 22 A). Nos difratogramas das amostras oxidadas com tratamento térmico (fig. 22B) é mais evidente a contribuição das fases dos óxidos de Ti ($\theta = 35^\circ$ a 43°)

Os picos correspondentes aos óxidos de Ti nos difratogramas de raios-X (fig.22) apresentam baixa intensidade e são largos. Estes resultados indicam que o arranjo dos átomos dos óxidos de Ti é irregular, não gerando padrões de difração bem definidos; ou seja, as camadas de óxidos de Ti possuem baixa cristalinidade.

Hawana et al., (1999) e SUL et al., (2002), também observaram por DRX que os filmes óxidos de titânio são pouco cristalinos e não estequiométricos. Concluíram que a baixa cristalinidade é devido a uma rede de óxido não contínua formada na interface Ti/TiO₂.

Conforme Mahan & Myers, (1995) a estrutura de um cristal pode estar sujeita a influência das condições de crescimento cristalino. Em acordo com Li

et al., (2004), as alterações de fase e composição estão estreitamente relacionadas com os processos envolvidos no tratamento anódico.

Segundo Sul et al., (2001), a formação das fases cristalinas está relacionada com a ruptura dielétrica do filme durante a anodização. Foi observado um mínimo centelhamento durante as anodizações com as misturas dos ácidos sulfúrico e fosfórico, conforme apresentado na seção 3.2. Estes resultados corroboram os difratogramas de DRX (fig.22), que confirmam a baixa cristalinidade das camadas de óxidos de Ti.

Com tensões crescentes a estrutura dos óxidos muda de amorfa para cristalina (LIU et al., 2012), o que foi observado nas anodizações com as misturas de ácido sulfúrico e fosfórico sob 250V, mantendo os demais parâmetros. Verifica-se a formação de trincas na superfície de todas as camadas de óxidos produzidos a 250 V. Estes resultados são apresentados e discutidos no anexo I.

A literatura aponta que a bioatividade está relacionada com a formação de fases cristalinas dos óxidos de titânio. Em filmes de óxidos amorfo ou com baixa cristalinidade não foi observada a bioatividade (LI et al., 2004; LIU *et al* , 2004; YANG et al., 2004; CUI et al., 2008, 2009; LILJA et al., 2011; GRIGAL et al., 2012).

Yang et al., 2004 observaram que mesmo a oxidação ocorrendo sem centelhamento, uma maior quantidade de anatásio e/ou rutílio cristalinos pode ser obtida através de um tratamento térmico a 600 ° C/1 h, o que favorece a nucleação de HA.

Os resultados da DRX (fig. 22) mostram que mesmo após o tratamento térmico as camadas de óxido de Ti ainda são compostas principalmente de fases anatásio e indicativos de rutílio, com baixa cristalinidade. Assim as condições estabelecidas para o tratamento térmico (temperatura e tempo) podem não ter sido adequadas, pois não promoveu mudanças significativas, não alterando a cristalinidade das camadas de óxidos conforme descrito por Yang et al. (2004), Park et al. (2007) e Cui et al. (2008) (relatados na seção 2.4).

Estes resultados da DRX (fig. 22) mostram que o comportamento individual dos ácidos sulfúrico e fosfórico (seção 3.2) não prevalece quando misturados nas condições testadas neste trabalho. Da mesma forma, os resultados sugerem que sendo considerada apenas a formação das fases dos óxidos as superfícies não são bioativas, uma vez que a literatura aponta que a bioatividade está relacionada com as fases cristalinas dos óxidos de Ti (LI et al., 2004; LIU et al., 2004; YANG et al., 2004; CUI et al., 2008, 2009; LILJA et al., 2011; GRIGAL et al., 2012).

4.3.2 Espectroscopia micro-Raman – Identificação das fases dos óxidos

Cabe ressaltar que tanto a espectroscopia micro-Raman como as imagens obtidas por MEV são avaliações muito localizadas e os resultados aqui apresentados correspondem a comportamentos típicos, mas que podem ser estendidos à superfície como um todo.

Foram realizadas medidas nas amostras oxidadas com e sem tratamento térmico. Entretanto, não foram observadas alterações significativas nos espectros micro-Raman dos óxidos anódicos antes e após o tratamento térmico. Portanto, optou-se em relatar apenas os dados referentes as amostras oxidadas e tratadas termicamente.

Na figura 23 são apresentados os espectros micro-Raman para os padrões de referência de óxidos de titânio (fig. 23 a) e das amostras oxidadas (fig. 23 b). A tabela 6 apresenta os modos e frequências de vibração micro-Raman das amostras anodizadas em comparação aos relatados por Ma et al. (2007).

Os espectros micro-Raman das camadas óxidos indicam que independente da condição de oxidação com a mistura dos ácidos, há prevalência da fase anatásio, e indicativos de presença de rutílio. A formação apenas da fase anatásio em filmes óxidos anódicos (eletrólito ácido fosfórico) também foi observada através da espectroscopia Raman por Frauchiger et al.

(2004) e Soares et al. (2007). Os resultados concordam com o estudo de Jaeggi et al. (2012), que mostrou que os óxidos crescidos com ácido fosfórico apresentam assinaturas de anatásio e um sinal difuso de rutílio.

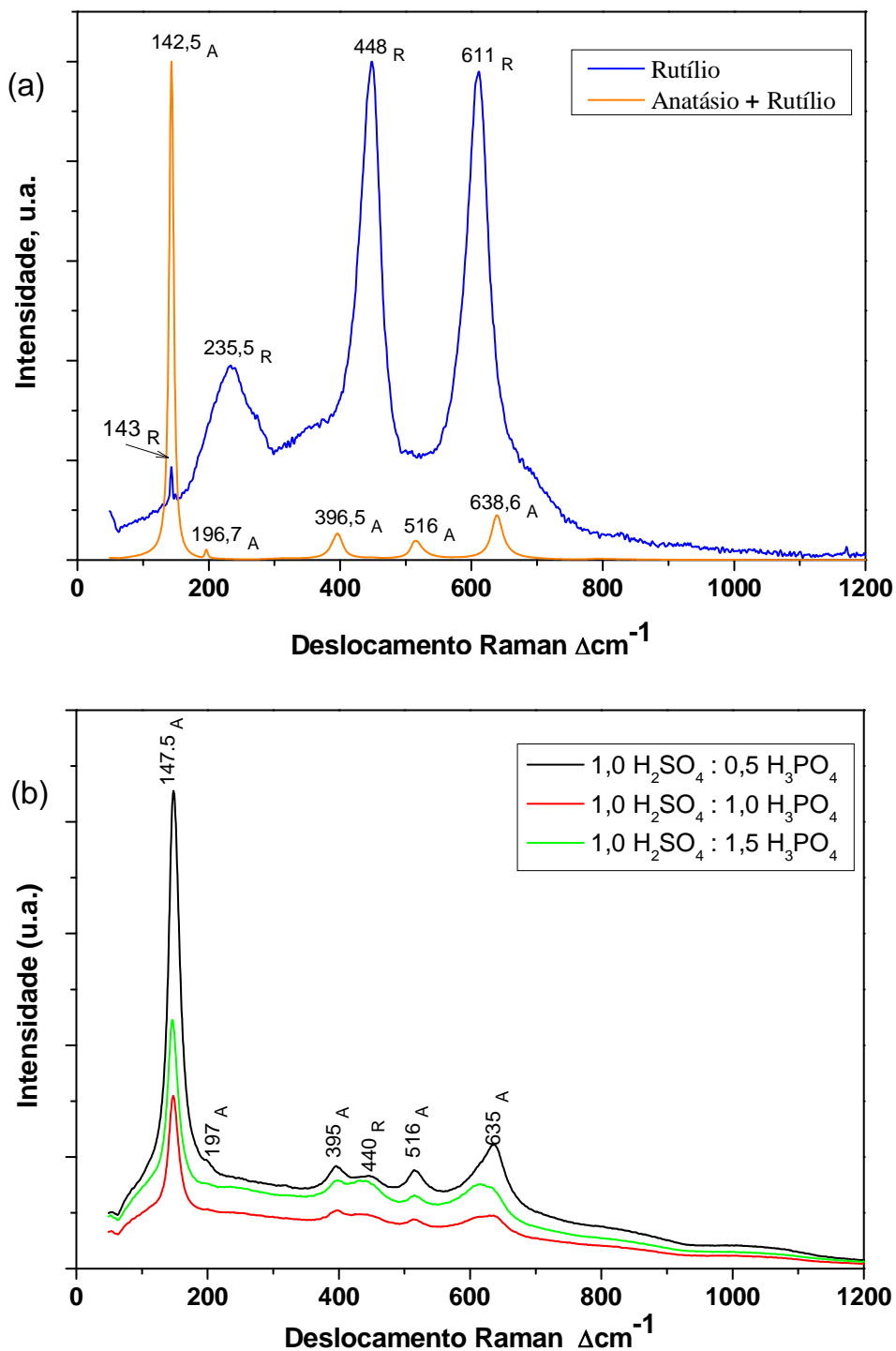


Figura 23 - Espectros micro-Raman: (a) referência óxidos de Ti (b) amostras oxidadas com TT. Sendo: A = anatásio e R = rutílio.

Os resultados da Espectroscopia micro-Raman corroboram com os resultados e discussões da DRX. É importante considerar que a avaliação volumétrica por micro-Raman é muito menor que em DRX, pois a penetração do feixe incidente no micro-Raman se restringe as primeiras camadas da superfície.

TABELA 6 - MODOS E FREQUÊNCIAS DE VIBRAÇÃO MICRO-RAMAN PARA AS AMOSTRAS DE REFERÊNCIA, AMOSTRAS OXIDADAS E LITERATURA

Óxido Ti	Modos vibracionais	Referência experimental	Amostras oxidadas	Ma et al. (2007)
Rutílio	B _{1g}	143,0	--	140,2
	Processo multi fônons	235,5	--	235,5
	E _g	448,0	440,0	445,8
	A _{1g}	611,0	--	609,8
	B _{2g}	--	--	825,5
Anatásio				
v ₁	E _g	142,5	147,5	140,9
v ₂	E _g	196,7	197,0	196,3
v ₃	B _{1g}	396,5	396,0	396,0
v ₄	A _{1g}	516,0	516,0	515,4
v ₅	B _{1g}	516,0	516,0	515,4
v ₆	E _g	638,6	635,0	632,7

4.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS DAS CAMADAS DE ÓXIDOS

4.4.1 Análise das indentações nas camadas de óxidos de Ti

A figura 24 mostra imagens MEV das impressões deixadas pela ponta Berkovich (400 mN) nos ensaios de nanoindentação na superfície do Ti-cp e das diferentes camadas anódicas. As setas nas figuras 24 b-d indicam a presença de trincas.

Trincas são observadas em todas as camadas anódicas e estas ocorrem devido a superfície rugosa/porosa apresentar comportamento plástico e não elástico durante os ciclos de carregamento e descarregamento da ponta do indentador (BOUZAKIS et al. (2003); de SOUZA et al. (2006)).

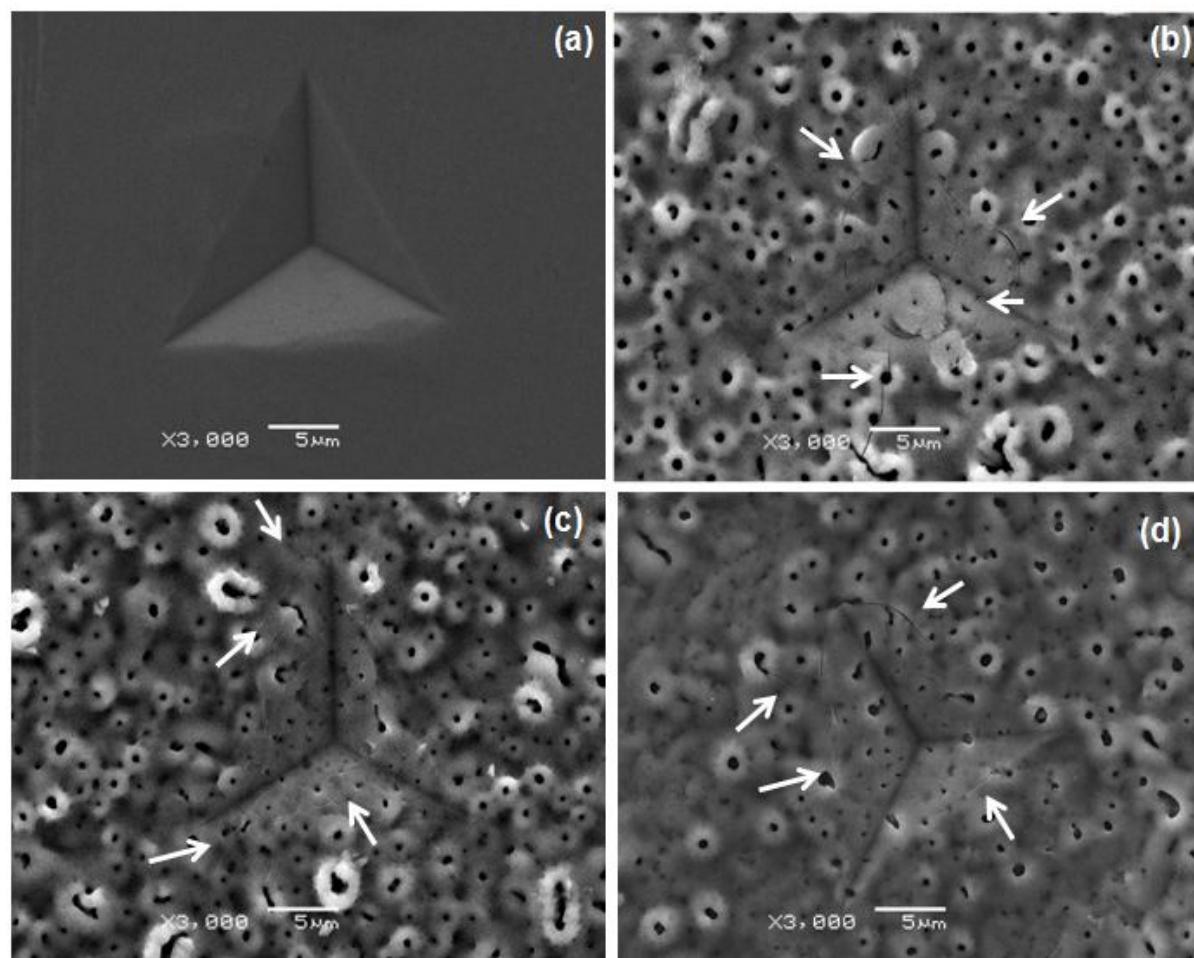


Figura 24 - Imagens (MEV) da impressão de nanoindentação (a) Ti-cp, camadas anódicas tratadas termicamente (b) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (c) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (d) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 . As setas indicam as trincas nas camadas de óxidos de TiO_2 .

No entanto, não são observadas regiões danificadas com a exposição do substrato de Ti-cp. Esta constatação indica que a camada apresenta uma boa adesão. De acordo Frauchiger et al. (2004) e Games et al. (2012) em uma primeira fase, após a colocação do implante, não deve ocorrer a perda e a integridade do revestimento de óxidos, e o surgimento de trincas durante a implantação do material pode comprometer seu desempenho. Isto é, o estado impecável dos revestimento evita a corrosão ou desgaste do implante.

A formação de trincas em camadas e/ou filmes de óxidos anódicos também foi observada por Frauchiger et al., (2004), Santos Jr. et al., 2007 e de Souza, (2010).

Segundo de Souza (2010) as trincas causam uma redução nos valores dos perfis de dureza. Os valores de dureza não correspondem ao comportamento do material sob deformação plástica, mas ao deslocamento da ponta devido às fraturas. O efeito das trincas na medida do módulo de elasticidade é menos significativo do que para a dureza. Esta propriedade está relacionada às interações elásticas entre átomos e moléculas; porém, o módulo de elasticidade obtido pelo método de indentação depende da área de contato A_c , a qual é linearmente dependente do quadrado da profundidade de contato h_c . O efeito é menor porque o módulo de elasticidade é proporcional a $1/A^{1/2}$, enquanto que a dureza é proporcional a $1/A$.

Se a carga sobre o indentador for maior ou igual a um valor limite em que a energia é maior que o necessário para nuclear e propagar trincas, pode ocorrer um aumento abrupto na área de contato, sem que para isso haja necessidade de um incremento de carga. A resistência do material ao deslocamento do indentador, ou seja, à penetração, é reduzida pela propagação de trincas, refletindo em valores menores de dureza, porém sem o envolvimento de deformações plásticas (de SOUZA, 2010).

4.4.2 Dureza e Módulo de elasticidade das camadas de óxidos de Ti

A figura 25 apresenta os perfis de dureza (fig. 25a) e módulo de elasticidade (fig. 25b) para o titânio polido utilizado como referência para as

propriedades mecânicas das três condições de anodização seguidas de tratamento térmico.

Para o Ti-polido a dureza próxima a superfície (~200 nm) é da ordem de 3,5 GPa enquanto que na profundidade de 2500nm (bulk) é de 2,4 GPa. Para o módulo de elasticidade foi obtido o valor de 135 GPa próximo a superfície (~200 nm) e de 125 GPa na maior profundidade (~2800 nm). A dureza e o módulo de elasticidade são maiores na superfície devido ao encruamento desta ocasionado pelo polimento mecânico.

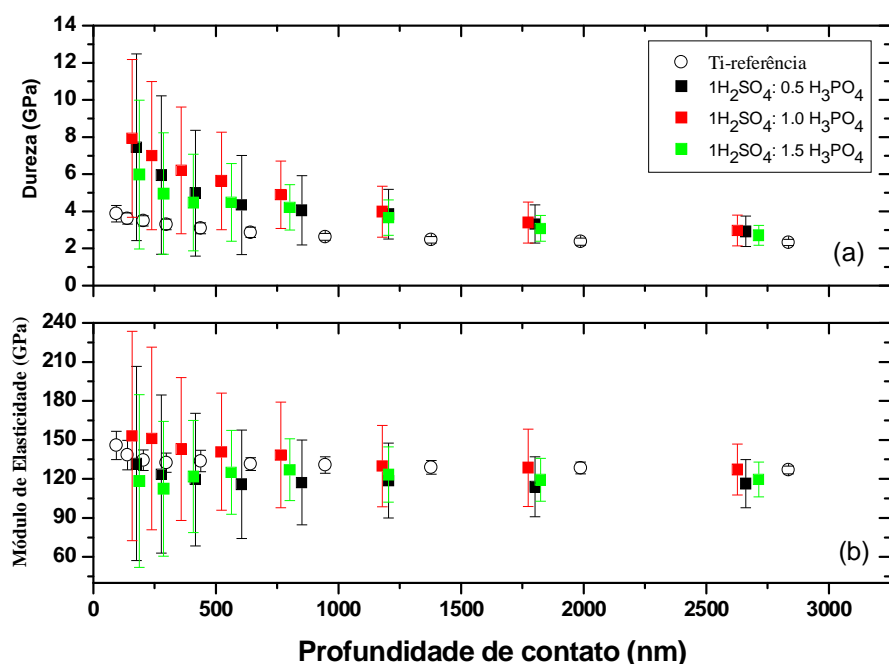


Figura 25 - (a) Dureza, (b) módulo de elasticidade no Ti-cp e nas camadas anódicas tratadas termicamente.

A figura 25.a mostra que o perfil de dureza das camadas de óxido de titânio é maior do que a do Ti-cp polido. As diferenças não são significativas quando comparados entre as diferentes condições de anodização utilizadas, principalmente devido a dispersão dos dados experimentais devido a rugosidade das amostras. Comparativamente, os valores de dureza próximos a superfície (~175 nm) correspondem a:

- a) 1,0 H₂SO₄: 0,5 H₃PO₄ = (7,3 ± 5,0) GPa
- b) 1,0 H₂SO₄: 1,0 H₃PO₄ = (7,8 ± 4,9) GPa
- c) 1,0 H₂SO₄: 1,5 H₃PO₄ = (5,8 ± 4,0) GPa

Estes valores correspondem as camadas anódicas, pois estão no limite de 1/10 da espessura; os ensaios de perfilometria (figura 20) indicaram uma espessura de aproximadamente 2 µm para todas as camadas anódicas. A partir de aproximadamente 500 nm os valores de dureza das camadas de óxidos tendem aos valores do Ti-polido (2.4 GPa).

A partir das barras de erro da curva de dureza da figura 25 verifica-se a influência da rugosidade/porosidade, e conforme aumenta a profundidade de contato, estas diminuem. O mesmo foi observado por Szesz (2010) que analisou as propriedades mecânicas em superfícies de Ti modificadas pelas técnicas de oxidação anódica, jateamento e tratamento alcalino.

Na figura 25.b temos os perfis do módulo de elasticidade em função das condições de anodização. Próximo a superfície (~175 nm) os módulos de elasticidade das diferentes condições de anodização correspondem a:

- a) 1,0 H₂SO₄: 0,5 H₃PO₄ = (132 ± 74) GPa
- b) 1,0 H₂SO₄: 1,0 H₃PO₄ = (152 ± 81) GPa
- c) 1,0 H₂SO₄: 1,5 H₃PO₄ = (117 ± 66) GPa

Da mesma forma que verificado para a dureza, partir de aproximadamente 500 nm os valores do módulo de elasticidade das camadas de óxidos anódicos tendem aos valores do módulo de elasticidade do Ti-polido (125 GPa).

No presente trabalho, não foi possível verificar diferenças significativas uma relação entre as propriedades mecânicas e os eletrólitos utilizados, uma vez que as medidas da dureza e do módulo de elasticidade sofrem a influência da alta rugosidade. As medidas correspondentes a superfície tem profundidade de ~ 200 nm, que corresponde aos 10% da espessura das camadas anódicas, nessa profundidade a dispersão é muito elevada devido a rugosidade das camadas de óxidos de Ti.

Para caracterizar materiais rugosos as medidas podem ser corrigidas. No entanto, esse procedimento tem duas importantes limitações. Primeiro, a quantificação da rugosidade da superfície não é um procedimento simples, e diferentes procedimentos adotados podem resultar em diferentes valores. (PELISSER et al., 2009). As camadas de óxidos de Ti obtidas neste trabalho possuem valores elevados de rugosidade, sendo uma característica desejável e importante das amostras, desta forma não é viável aplicar correções, como também os métodos de correção são de difícil avaliação.

4.5 BIOATIVIDADE DAS CAMADAS DE ÓXIDOS DE TiO_2

Nesta seção são apresentados os resultados para os testes de bioatividade *in vitro* que foram realizados nas amostras oxidadas e tratadas termicamente, as quais permaneceram por 30 dias imersas na solução SBF proposta por Kokubo et al. (2006). Estes resultados são apresentados conforme as técnicas de caracterização utilizadas (MEV, EDS, difração de raios-X, espectroscopias micro-Raman e Infravermelho, nanoindentação).

4.5.1 Morfologias das camadas de hidroxiapatita

As figuras 26-28 mostram as morfologias das amostras após os ensaios de bioatividade *in vitro*. Nas imagens de MEV podem ser observadas, independente da condição de anodização e nas diferentes magnificações, a presença de uma nova camada formada sobre a superfície modificada, a qual corresponde aos precipitados de compostos com morfologia típica à de fosfatos de cálcio (YANG et al., 2004; CUI et al., 2009; KOKUBO et al., 2009; WU & WANG, 2010).

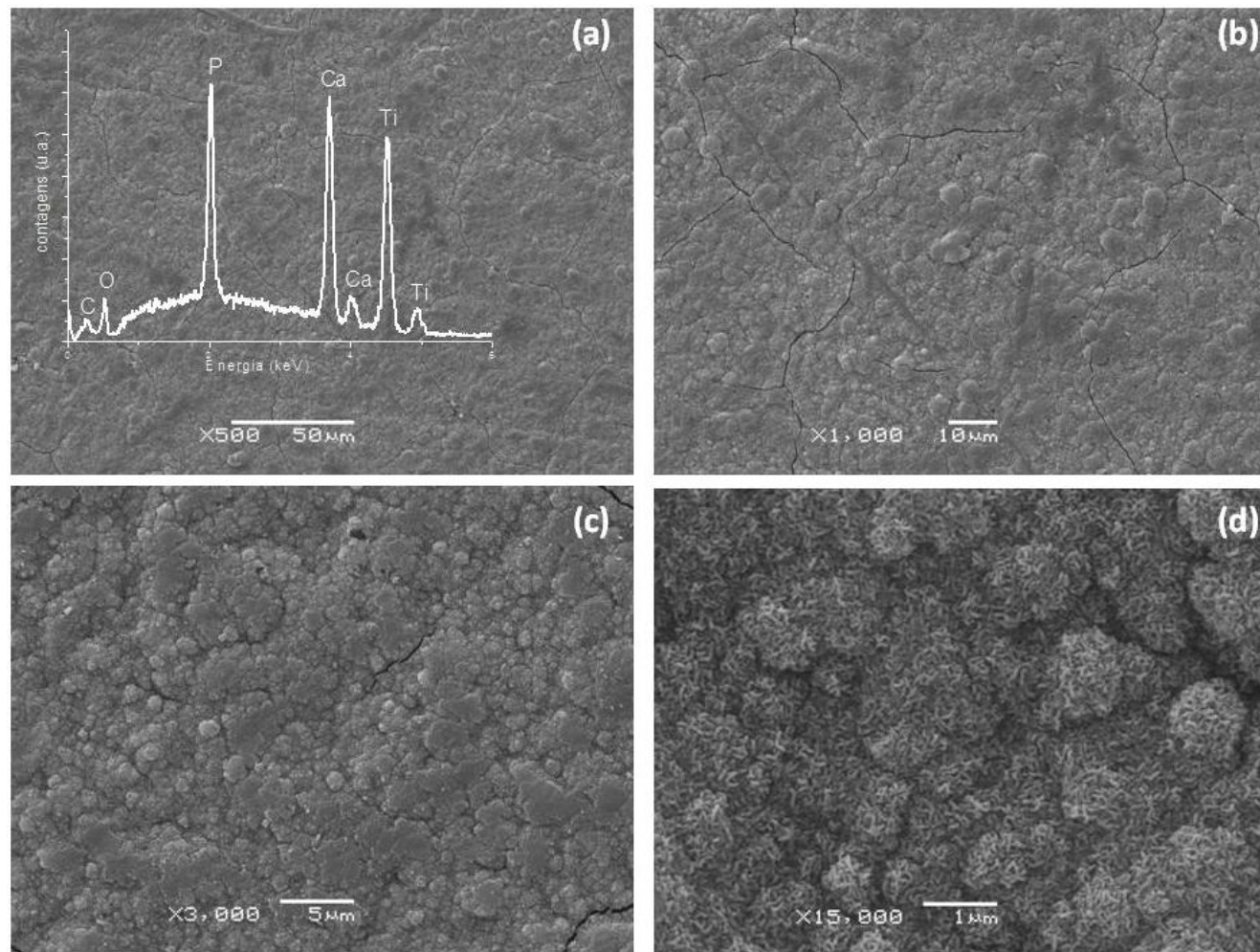


Figura 26 - Imagens MEV indicando precipitados de HA após 30 dias em solução SBF para condição 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 , em diferentes magnificações (a) 500 X e detalhe do EDS correspondente à imagem (b) 1000 X (d) 3000 X (e) 15000 X.

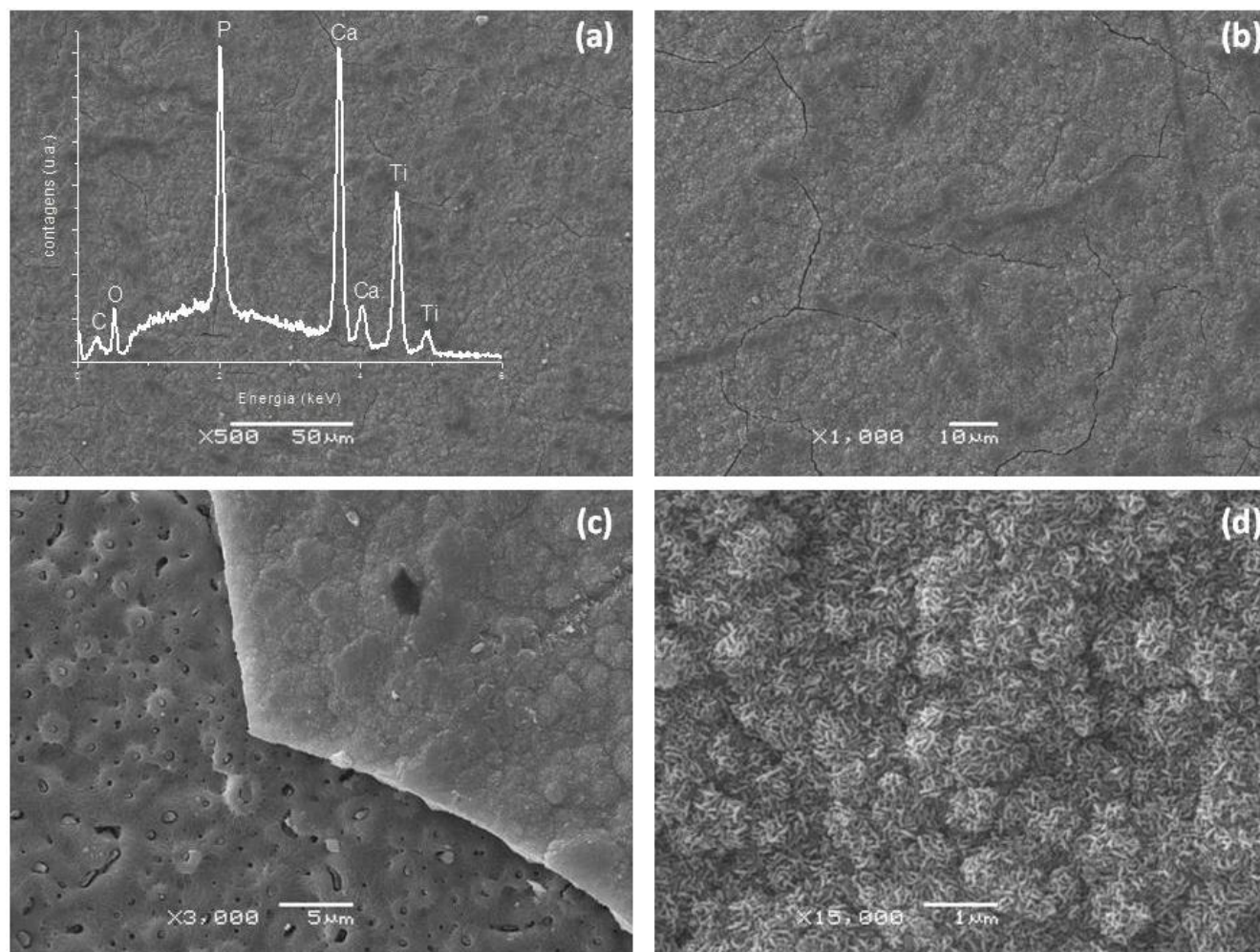


Figura 27 - Imagens MEV indicando precipitados de HA após 30 dias em solução SBF para condição 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 , em diferentes magnificações (a) 500 X e detalhe do EDS correspondente à imagem (b) 1000 X (d) 3000 X (e) 15000 X.

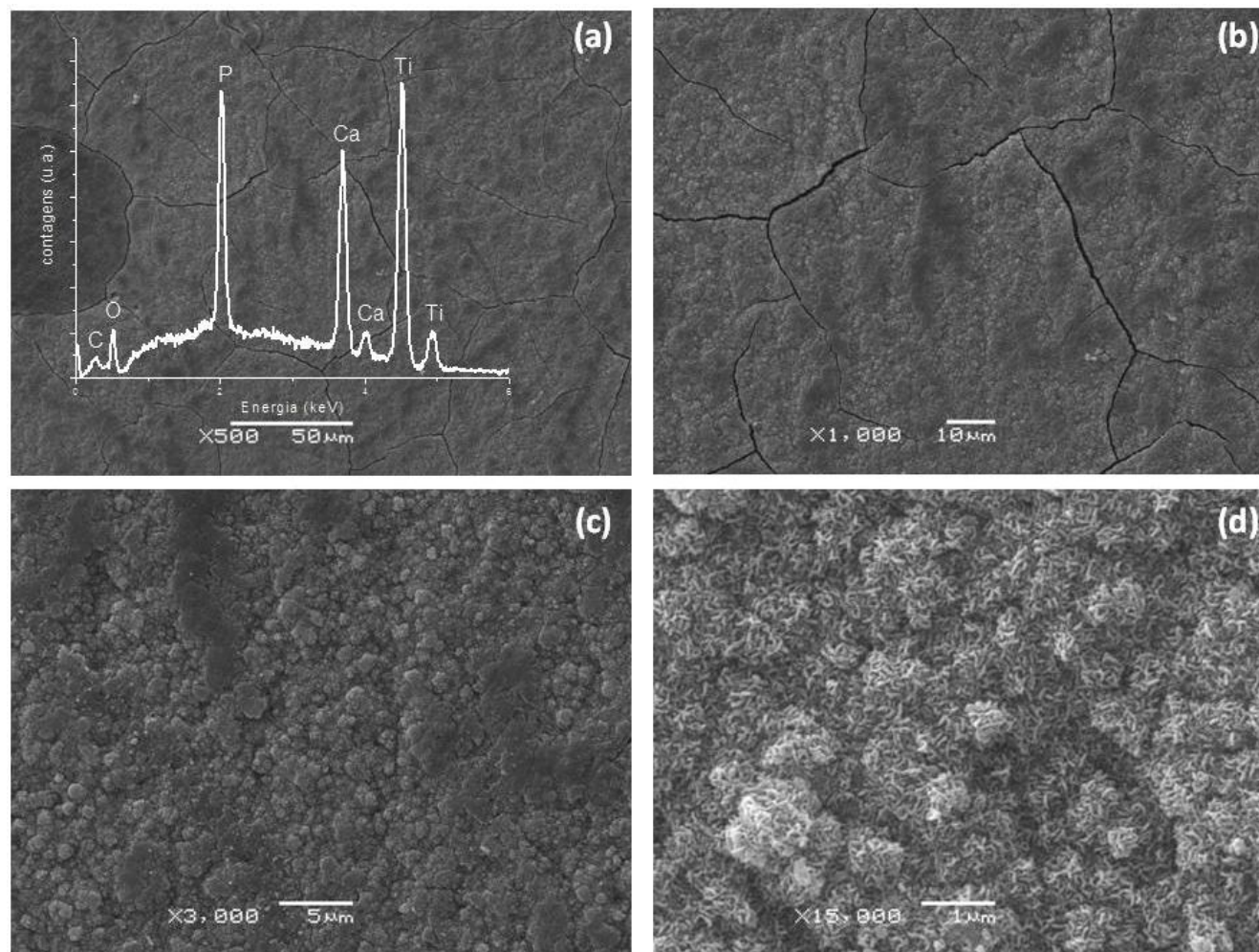


Figura 28 - Imagens MEV indicando precipitados de HA após 30 dias em solução SBF para condição 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 , em diferentes magnificações (a) 500 X e detalhe do EDS correspondente à imagem (b) 1000 X (d) 3000 X (e) 15000 X.

As micrografias 26.b, 27.b e 28.b mostram fraturas nas camadas de HA, decorrente a desidratação da HA devido ao sistema de vácuo da técnica MEV.

Os detalhes nas figuras 26.a, 27.a e 28.a são os espectros EDS correspondentes as imagens com magnificação de 500 vezes. A tabela 7 mostra os valores da relação Ca/P para cada condição de anodização utilizada.

TABELA 7 - RAZÃO MOLAR Ca/P

Amostra	Ca/P
1,0 H ₂ SO ₄ : 0,5 H ₃ PO ₄	1,53 ± 0,07
1,0 H ₂ SO ₄ : 1,0 H ₃ PO ₄	1,70 ± 0,06
1,0 H ₂ SO ₄ : 1,5 H ₃ PO ₄	1,25 ± 0,08

Ocorreu a incorporação de fosfatos, de forma similar, em todas as superfícies oxidadas e tratadas termicamente (fig.18), desta forma era esperado que nucleação de HA fosse muito semelhante nas três camadas de óxidos, independente do eletrólito.

As duas primeiras condições de anodização (1,0 H₂SO₄: 0,5 H₃PO₄ e 1,0 H₂SO₄ : 1,0 H₃PO₄), apresentaram valores próximos a 1,67 da razão atômica Ca/P da HA, que é um indicativo de precipitação de HA em materiais imersos em SBF (COSTA et al., 2009).

Nos espectros infravermelho da figura 19, o pico largo em 1.407 cm⁻¹ devido à vibrações no plano das ligações P-OH está presente somente para a condição 1,0 H₂SO₄: 1,0 H₃PO₄, possivelmente justificando o maior valor da razão Ca/P (1,70 ± 0,06). A presença de íons hidroxila possibilita uma maior interação da superfície com o meio fisiológico, favorecendo a formação de HA.

Para a condição 1,0 H₂SO₄: 1,5 H₃PO₄, a razão Ca/P é menor que 1,67, indicando que pouco cálcio foi incorporado na camada anódica (GAO et al., 2012), o que por sua vez não favorece a plena nucleação da HA. Entretanto,

conforme Cui et al. (2008, 2009) uma vez nucleada, a HA pode crescer espontaneamente pela absorção dos íons cálcio e fosfato do SBF, pois este é altamente supersaturado com relação à HA.

Pelo fato das técnicas MEV e EDS serem pontuais, não é possível afirmar se pouco cálcio foi incorporado na camada da condição 1,0 H₂SO₄: 1,5 H₃PO₄, que apresentou o menor valor para a razão Ca/P (1,25).

É necessária a análise dos resultados das demais técnicas de caracterização, as quais podem fornecer maiores informações das camadas de HA para todas as condições de anodização (DRX, micro-Raman e *IV*) para certificar se há ou não o favorecimento da bioatividade em uma das condições de anodização.

Os resultados da razão Ca/P não concordam com os obtidos por Lee et al. (2006) que também utilizaram uma mistura de ácido sulfúrico e fosfórico para oxidar o Ti. Após os ensaios de bioatividade a análise EDS mostrou uma maior capacidade de nucleação de Ca-P no filme anódico formado no eletrólito com alta concentração de ácido fosfórico.

Na figura 27.c (1,0 H₂SO₄ : 1,0 H₃PO₄) observa-se a camada de HA e parte da camada de óxido exposto. A camada de HA é frágil, possivelmente durante o manuseio da amostra ocorreu este desprendimento. É possível verificar que a porosidade da camada de óxido contribui para a permeabilidade do SBF favorecendo o crescimento da HA, pois a micrografia 27.c mostra precipitados de HA no interior dos poros, indicando que a nucleação desta se inicia no interior dos poros e posteriormente cobrindo toda a superfície.

Os resultados apresentados nesta seção confirmam a presença da HA sobre as camadas de óxidos obtidos com as misturas dos ácidos sulfúrico e fosfórico. Os resultados de DRX (seção 4.3.1) mostraram uma baixa cristalinidade das camadas de óxidos de Ti, que conforme a literatura é um fator desfavorável para a bioatividade.

Desta forma, os resultados deste trabalho indicam uma alta cristalinidade de óxidos de Ti não é determinante para uma elevada

bioatividade, como sugerido pela literatura (LI et al., 2004; LIU et al. 2004; YANG et al., 2004; CUI et al., 2008, 2009; LILJA et al., 2011; GRIGAL et al., 2012).

Neste trabalho a nucleação da HA pode ser atribuída a porosidade das camadas de óxidos e a incorporação de fosfatos durante o processo de anodização. Yang et al. (2004) sugerem que uma estrutura porosa de óxido de titânio contribui para a formação de HA. Segundo Lee et al. (2006) a incorporação de fosfatos indica que espécies carregadas negativamente (HPO_4^- e PO_4^-) na superfície de óxido de Ti podem favorecer a nucleação de fosfato de cálcio pela interação atrativa com os íons Ca^{2+} presentes no SBF.

4.5.2 Difração de Raios-X para camada de hidroxiapatita

A figura 29 apresenta os difratogramas de DRX de três padrões de referência para a HA: (a) pó de HA, (b) pastilha de HA com granulometria 1200, (c) pastilha de HA com granulometria 1000. Os picos das amostras de padrão de referência estão em concordância com os arquivos JCPDS: HA pdf nº 9-432. Todos os picos dos difratogramas correspondem a hidroxiapatita.

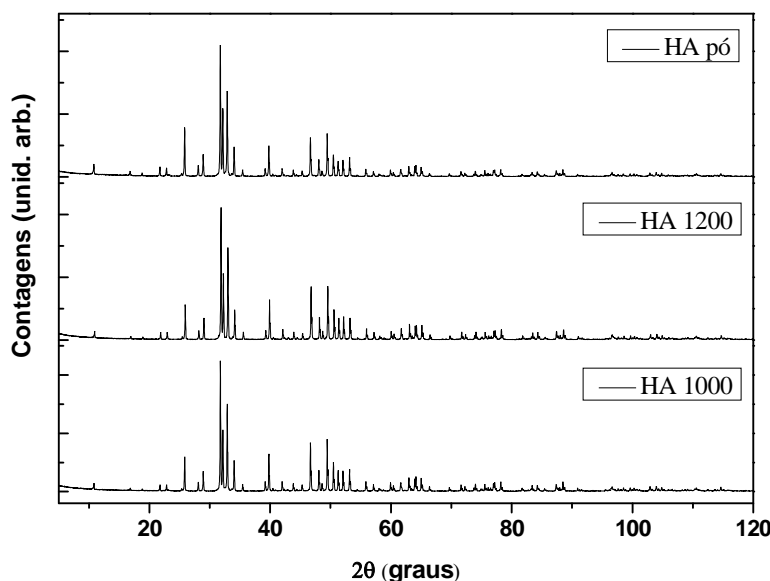


Figura 29- Difratogramas DRX: padrões de referência HA.

Na figura 30A são mostrados os difratogramas de DRX para as superfícies de titânio oxidadas e submetidas ao tratamento térmico, após os ensaios de bioatividade de 30 dias na geometria θ -2 θ .

Verificam-se picos correspondentes a HA próximo a 32° , 54° e 77° . Para a terceira condição (1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4) há picos de HA próximo a 29° e 74° , porém o pico próximo a 54° tem intensidade muito menor do que nas demais condições. Devido a proximidade de picos dos óxidos de Ti e da HA, próximo aos picos em 48° e 63° ocorre uma contribuição destes compostos. Estes resultados indicam que ocorreu a nucleação de HA sobre as camadas de óxidos de titânio.

Devido ao fato da HA ser nucleada na superfície, foram realizadas medidas de DRX na geometria rasante com $\theta = 1,5$ (Fig 30B).

Para todas as condições de anodização na região de $\theta = 32^\circ$ o sinal para a HA torna-se mais evidente, confirmado a presença de HA na superfície das camadas de óxidos de Ti.

Observa-se (fig. 30B) que o pico na região $\theta = 32^\circ$ apresenta melhor definição para a condição intermediária (1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4), na qual a razão molar de Ca/P, corresponde a $1,70 \pm 0,06$; e foi verificado a presença de P-OH através do espectro I/V (fig.19). Estes resultados sugerem a possibilidade um favorecimento desta condição em relação as demais (1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4)

Devido à proximidade de picos de HA, Ti e seus óxidos, a partir de $\theta = 35^\circ$ têm-se uma contribuição de todos estes compostos, conforme indicado na figura 30B.

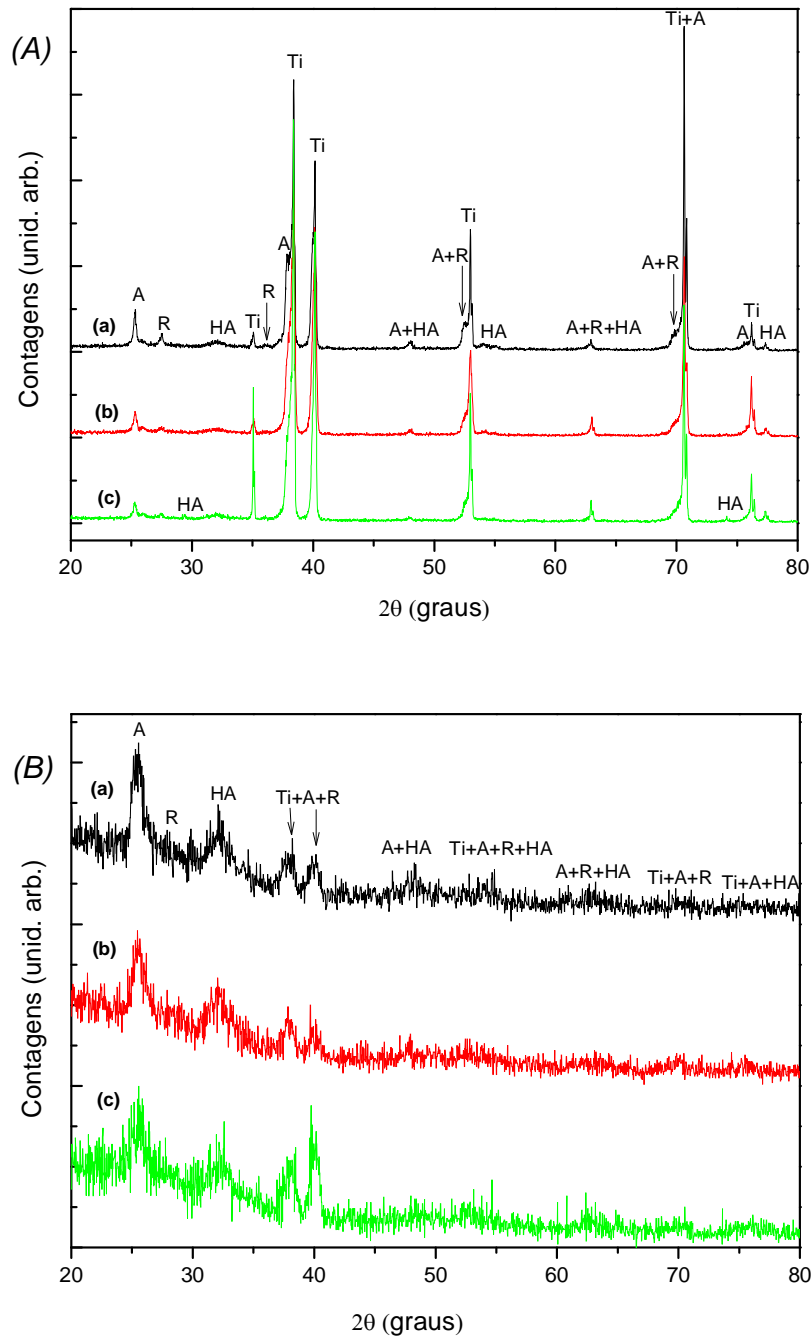


Figura 30 - Difratoigramas de DRX após os ensaios de bioatividade de 30 dias (A) Geometria θ - 2θ , (B) Geometria com ângulo rasante $\theta = 1,5^\circ$. Para ambas configurações: (a) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (b) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (c) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 . Sendo: Ti = titânio, A = anatásio, R = rutílio, HA = hidroxiapatita.

4.5.3 Espectroscopias micro-Raman e Infravermelho

Na figura 31 são apresentados os espectros micro-Raman (Fig 31a) e *IV* (fig. 31b) dos padrões de referência de HA (pó, pastilhas com granulometrias 1.000 e 1.200).

As figuras 32 e 33 correspondem aos espectros micro-Raman e *IV* das superfícies de titânio oxidadas e com tratamento térmico nas três condições das misturas dos ácidos, após os ensaios de bioatividade de 30 dias. No final desta seção, na tabela 8 são apresentados os modos vibracionais e suas respectivas frequências, dos espectros das figuras 31 - 33, em comparação aos relatados por Marković et al. (2011).

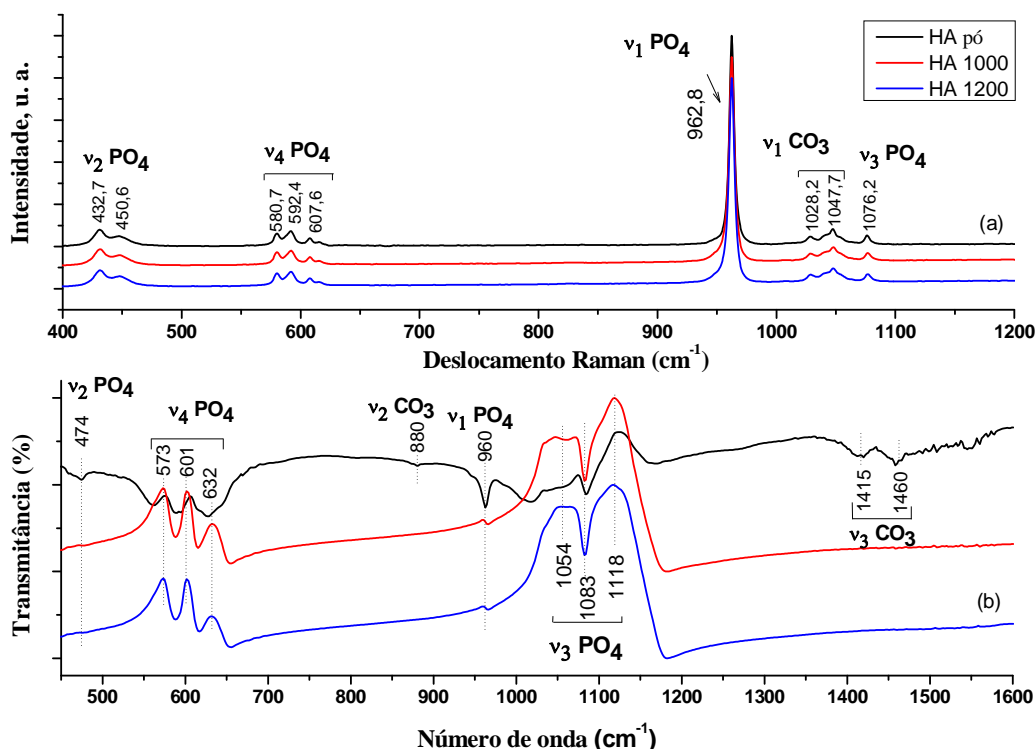


Figura 31 - Espectros para HA referência: (a) micro-Raman (b) Infravermelho.

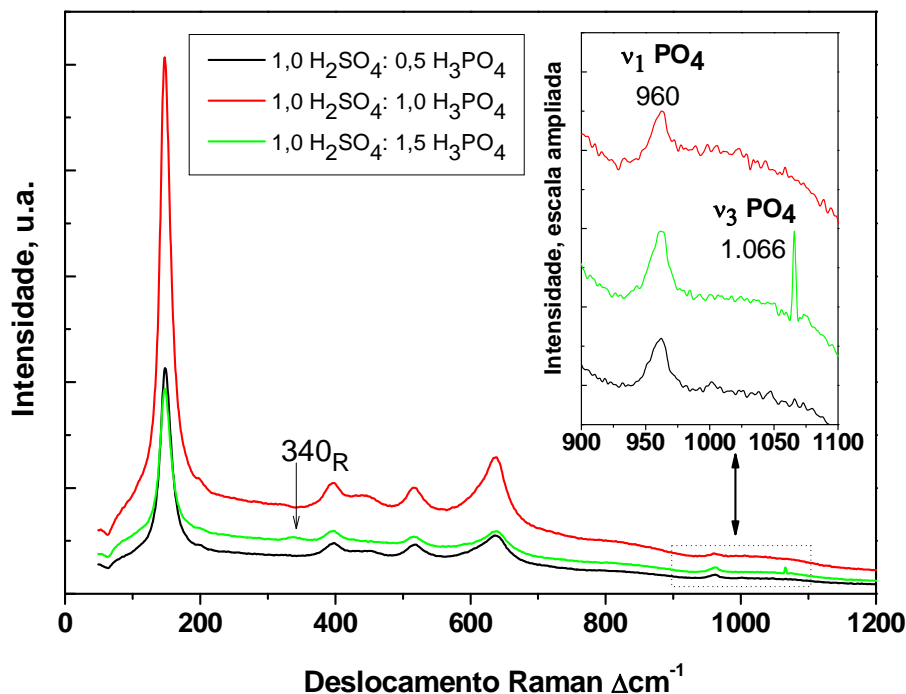


Figura 32 - Espectros micro-Raman das superfícies de titânio oxidadas e com tratamento térmico nas três condições das misturas dos ácidos, após os ensaios de bioatividade.

A espectroscopia micro-Raman (fig.32) mostra a presença das fases dos óxidos de titânio em acordo ao discutido na seção 4.3.2. Porém, após a imersão em SBF observa-se na região 340 cm^{-1} uma contribuição de um pico largo e de baixa intensidade. A presença deste modo de vibração, segundo Balachandran & Eror (1982) pode ser também atribuídos a fase rutílio.

O detalhe da figura 32 mostra a região entre 900 e 1.100 cm^{-1} na qual é esperada a contribuição dos grupos funcionais PO_4^{3-} e CO_3^{2-} da HA (PENEL et al., 1998; PUCEÁT et al., 2004, MARKOVIĆ et al., 2011). A presença da assinatura Raman em 960 cm^{-1} correspondente ao grupo fosfato confirma que sobre as superfícies de óxidos de Ti nucleou HA após a imersão em SBF. Para a concentração $1,0\text{ H}_2\text{SO}_4: 1,5\text{ H}_3\text{PO}_4$ observa-se a presença de um pico definido em 1.066 cm^{-1} pertencente ao grupo de fosfato (ν_3).

Conforme já apresentado na seção 2.1 a literatura aponta divergências na atribuição de picos próximos a 1.070 cm^{-1} . Tem sido atribuído ao modo ν_3 de fosfato ou ao modo ν_1 de carbonato, ou a ambos (PENEL et al., 1998; AWONUSI et al., 2007).

Próximo a esta região (1.070 cm^{-1}) o padrão de referência para a HA (fig 31.a) mostra três diferentes picos correspondentes a HA bem definidos. Concordando com Marković et al., (2011), as frequências com valores menores correspondem ao grupo carbonato ($1.028,2$ e $1.047,7\text{ cm}^{-1}$), e o maior valor de frequência ($1.076,2\text{ cm}^{-1}$) ao fosfato. Assim, o pico em 1.066 cm^{-1} (fig. 32) foi identificado com fosfato (ν_3).

A assinatura Raman típica da HA cristalina é um pico estreito em 960 cm^{-1} (PENEL et al., 1998; PUCEÁT et al., 2004, AWONUSI et al., 2007), o que pode ser verificado nos espectros de referência da HA (fig. 31a), mas não nos espectros das amostras que passaram pelos ensaios de bioatividade (fig.32). Estes dados corroboram os resultados de DRX (seção 4.5.2) e permitem inferir que o grau de cristalinidade da HA é baixo, pois os picos de difração são largos, bem como os modos vibração tem ampla dispersão nos seus valores.

De acordo com Puceát et al., (2004) as técnicas de DRX e espectroscopia Raman são sensíveis quando a composição das amostras apresentam alta cristalinidade, enquanto que a espectroscopia no *IV* é sensível mesmo em baixas cristalinidades. Logo, para se obter uma caracterização completa das camadas de HA foi utilizada a técnica de espectroscopia no *IV*.

Os espectros *IV* na figura 33 apresentam picos bem definidos correspondentes aos grupos funcionais PO_4^{3-} e CO_3^{2-} da HA (PENEL et al., 1998; PUCEÁT et al., 2004, MARKOVIĆ et al., 2011), confirmando a baixa cristalinidade das camadas de HA crescidas sobre as camadas anódicas.

Para a primeira condição de anodização ($1,0\text{ H}_2\text{SO}_4$: $0,5\text{ H}_3\text{PO}_4$) o espectro *IV* apresenta melhor definição frente as outras condições de oxidação. O espectro desta condição quando comparados aos espectros de HA - referência (fig. 31.b), apresenta uma maior similaridade nos picos entre $550\text{--}630\text{ cm}^{-1}$ e $1050\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$, do que os picos nestes intervalos para as demais condições de anodização.

Independente da condição de anodização, para o grupo de carbonatos (fig.33), os resultados concordam com Puceát et al., (2004), onde não é

observada que a presença da frequência ν_1 por ser não *IV* ativa, enquanto que as bandas ν_4 têm intensidades muito baixas e são raramente observadas no espectro de infravermelho.

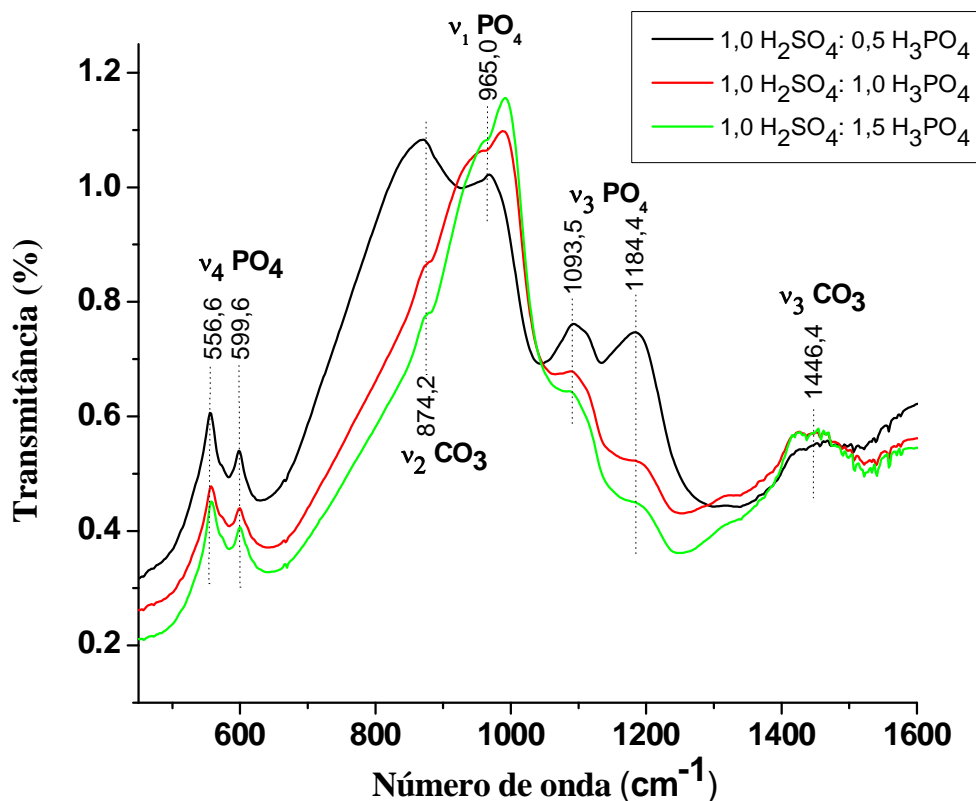


Figura 33 - Espectros *IV* das superfícies de titânio oxidadas e com tratamento térmico nas três condições das misturas dos ácidos, após os ensaios de bioatividade de 30 dias.

Em todos os espectros *IV* da figura 33 observa-se que para o grupo de fosfatos, estão presentes todas as frequências vibracionais, exceto ν_2 . A ausência de bandas no *IV* pode ser atribuída ao fato de que a técnica é muito sensível a água, pontes de hidrogênio das moléculas de água podem interferir nas vibrações da hidroxila presente na HA (PENEL et al., 1998; PUCEÁT et al., 2004).

Os resultados das espectroscopias vibracionais (micro-Raman e *IV*) não confirmam que a condição 1,0 H₂SO₄: 1,0 H₃PO₄ é mais favorável para a nucleação de HA.

TABELA 8 - ASSINATURAS E MODOS VIBRACIONAIS DA HA PARA AS ESPECTROSCOPIAS RAMAN E /V

	Raman			Infravermelho		
Assinatura e modo vibracional	Markovié et al. (2011)	Referência Experimental	Camada HA	Markovié et al. (2011)	Referência Experimental	Camada HA
ν_1 estiramento simétrico P-O	957 - 963	962,8	960	961	960	965
ν_2 flexão duplamente degenerado O-P-O	385 - 449	432,7 450,6	-	472-473	474	-
ν_3 estiramento assimétrico, triplamente degenerado P-O	996-1.078	1.076,2	1.066	1.035-1.092	1.054 1.083 1.118	1.093,5 1.184,4
ν_4 flexão duplamente degenerado O-P-O	580-608	580,7 592,4 607,6	-	564-603	573 601 632	556,6 599,6
ν_1 C-O	1.069-1.114	1.028,2 1.047,7	-	Não ativa		
ν_2 C-O	Não ativa			872-880	880	874,2
ν_3 C-O	Não ativa			1.452-1.418	1.415 1.460	1.446,4
ν_4 C-O	664-730	-	-	719-755	-	-

4.5.4 Perfil de Profundidade micro-Raman

A figura 34.a mostra o perfil de profundidade micro-Raman para a amostra da condição 1,0 H₂SO₄ 1,5 H₃PO₄. As demais condições apresentaram o mesmo tipo de perfil. Nas figuras 34 b-d é mostrado em escala ampliada os perfis de profundidade para todas as condições de anodização na região entre 900 cm⁻¹ a 1.000 cm⁻¹. Observa-se claramente a presença do modo vibracional típico da HA (960 cm⁻¹, ν_1 PO₄).

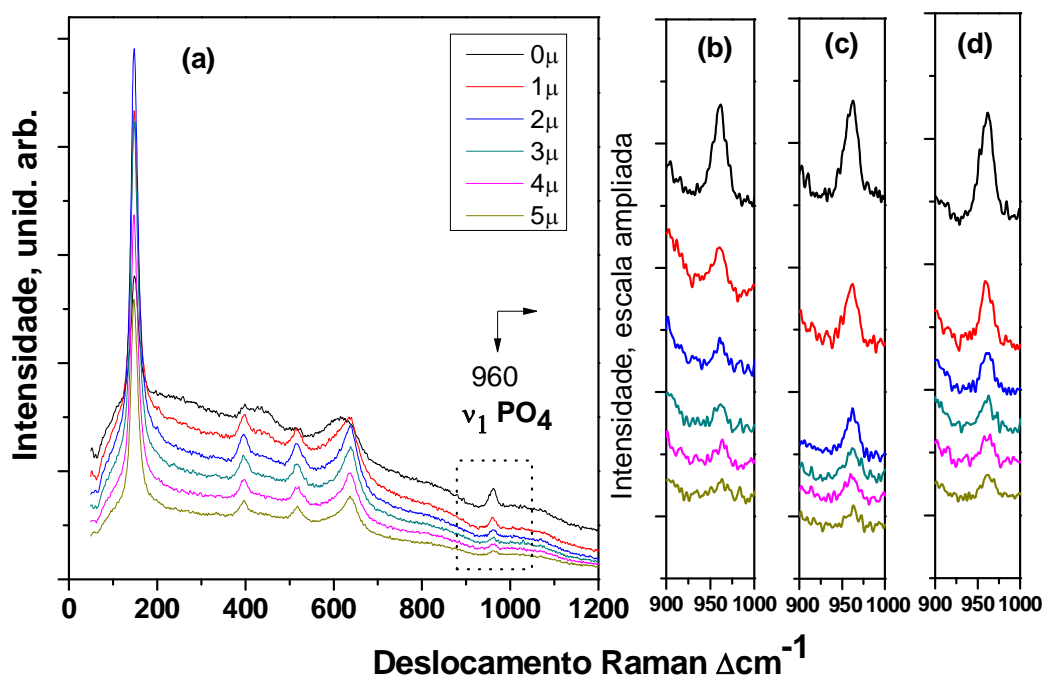


Figura 34- (a) Perfil de Profundidade micro-Raman na condição 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 . Perfis de Profundidade micro-Raman em escala ampliada (b) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (c) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (d) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4

Assim como observado por Bonadio (2010), nas presentes condições de anodização os perfis em profundidade micro-Raman mostraram que a intensidade da banda característica da HA em 960 cm^{-1} diminuiu com o aumento da profundidade de foco. Desta forma podemos inferir que a camada de HA é relativamente espessa, porém sem precisar o seu valor exato.

4.5.5 Propriedades mecânicas das camadas de hidroxiapatita

A figura 35 mostra imagens MEV de impressões deixadas pela ponta Berkovich (400 mN) nas superfícies de titânio oxidadas e tratadas termicamente após os ensaios de bioatividade de 30 dias.

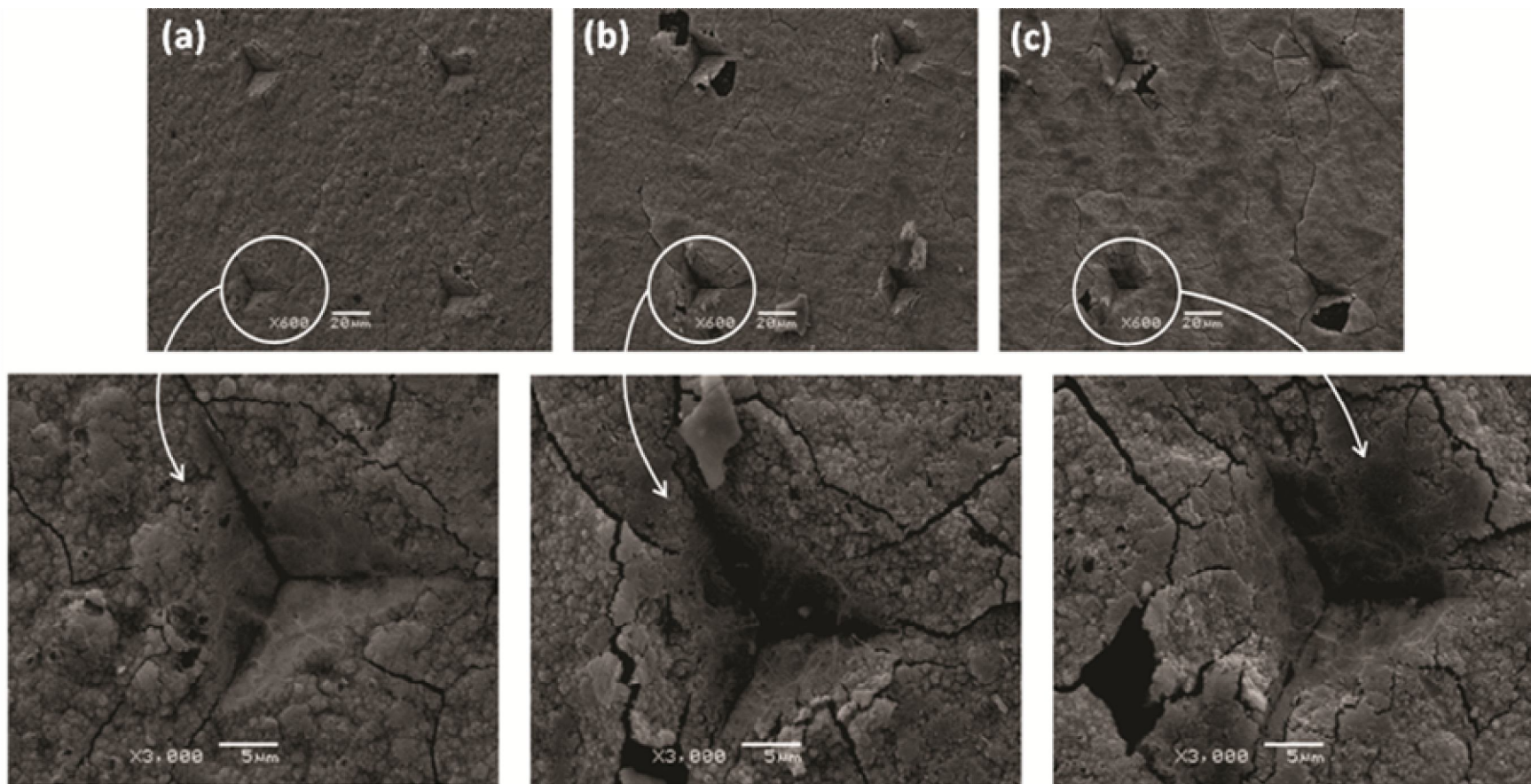


Figura 35 - Imagens (MEV) da impressão de nanoindentação das superfícies de titânio oxidadas nas três condições das misturas dos ácidos, após os ensaios de bioatividade de 30 dias: (a) 1,0 H_2SO_4 : 0,5 H_3PO_4 (b) 1,0 H_2SO_4 : 1,0 H_3PO_4 (c) 1,0 H_2SO_4 : 1,5 H_3PO_4 .

A presença de trincas é evidente, bem como de intenso processo de fratura ao redor da indentação, resultando em levantamento da camada. Estas observações indicam que a camada de HA formada após imersão em SBF é frágil.

Conforme Lepienski et al. (2007) quando as trincas são em grande número, a penetração não é mais dependente somente das deformações elástoplásticas, mas sim também da resistência do material em relação à formação de trincas. Mesmo que, em caso de fraturas, o valor medido não tenha o mesmo significado, deve considerar que os resultados da penetração em função da força aplicada são uma estimativa bastante adequada para o comportamento mecânico desse material sob forças localizadas.

Para minimizar as fraturas deve ser usado um penetrador menos agudo para a medida de dureza, ou cargas menores abaixo do limiar de formação de trincas (LEPIENSKI et al., 2007).

No entanto, antes de realizar os ensaios de nanoindentação nas amostras após os testes de bioatividade, é necessário verificar a superfície com a técnica de MEV para certificar a presença da camada de HA sobre as camadas de óxidos. As micrografias 26.b, 27.b e 28.b mostram fraturas nas camadas de HA, decorrente a desidratação da HA devido ao sistema de vácuo da técnica MEV, as quais podem contribuir para resultados discrepantes. Ainda deve-se considerar que a quantidade e o tamanho das fraturas da figura 35 podem ser maiores do que quando realizados os ensaios de nanoindentação, pois após estes; as amostras são novamente analisadas por MEV para se obter as imagens da indentações (fig. 35).

A Figura 36 mostra os perfis de dureza e módulo de elasticidade das camadas de HA formadas sobre as camadas de óxidos. Pode-se observar que se trata de uma camada mole sobre substrato duro, independente da condição de anodização. Cabe ressaltar que estas amostras possuem um filme fino de Au (< 500 nm).

No perfil da dureza observou-se que mesmo a 3500 nm de profundidade ainda não se atingiu o valor de Ti de volume (~2.5 GPa). O que

confirma a presença de uma camada relativamente espessa, em acordo com os perfis em profundidade obtidos na espectroscopia micro-Raman. Do mesmo modo valor do módulo de elasticidade do Ti (117 GPa) não foi atingido na carga máxima aplicada (400 mN).

Os resultados estão de acordo com os obtidos por Chang et al., (2011) que analisaram as propriedades mecânicas de osso cortical de ratos por indentação instrumentada segundo o método Oliver-Pharr. Para o módulo de elasticidade os valores variaram entre 26-30 GPa, e a dureza entre 0,9 - 1,1 GPa.

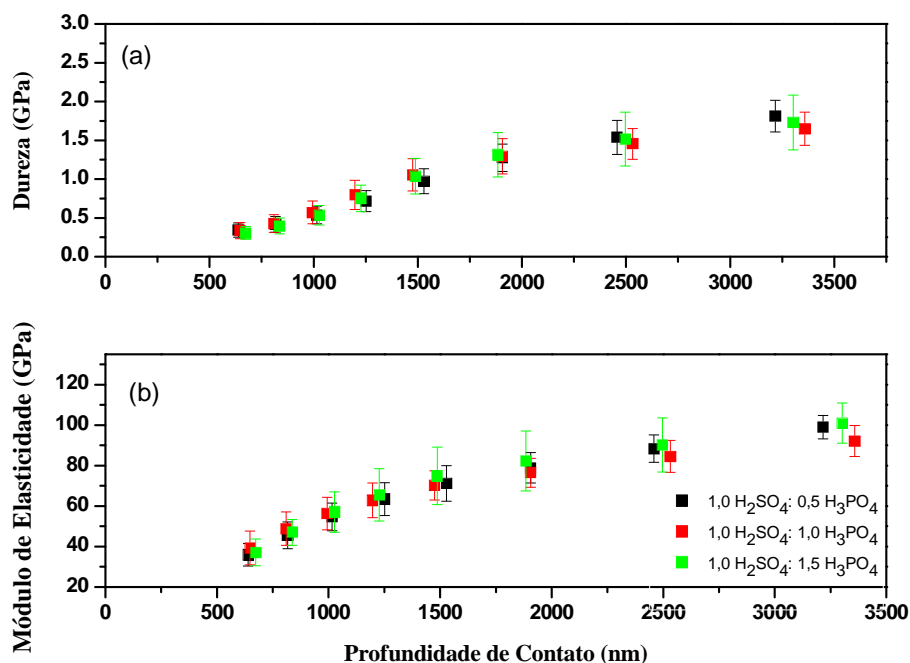


Figura 36 - Gráficos: (a) dureza e (b) módulo de elasticidade *versus* profundidade de contato para a camada de HA sobre as camadas anódicas

A HA é o principal componente dos ossos (aproximadamente 70%), sendo responsável pelas suas propriedades mecânicas (RIGO et al., 1999). Assim, determinar a dureza e módulo de elasticidade da HA pode contribuir para a compreensão do comportamento mecânico do osso e para a produção de biomateriais.

Muitas pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de combinar a resistência mecânica dos metais e as propriedades biológicas da HA através do uso de recobrimento, pois a HA é um material bioativo que é capaz de formar uma união química com o osso, entretanto possui baixa resistência mecânica (RIGO et al., 1999); como pode ser observado pelas imagens da figura 35.

5 CONCLUSÕES

O presente trabalho possibilitou a avaliação das modificações nas superfícies do titânio comercialmente puro grau 2, com a intenção de torná-lo bioativo; realizadas com a técnica de oxidação anódica, utilizando três diferentes misturas de ácidos sulfúrico e fosfórico.

A anodização com a mistura dos ácidos mostrou-se propícia para a modificação da superfície de Ti-cp com o intuito de se obter a bioatividade. As superfícies modificadas são rugosas e com poros interconectados distribuídos uniformemente, aumentando a área de contato superficial, características de uma morfologia adequada para a ósseo integração.

As fases de óxidos formadas após as anodizações, independentemente da mistura dos ácidos, correspondem a fase anatásio com indícios de rutilio. Apresentaram baixa cristalinidade; mesmo após o tratamento térmico a 600°C/1h. Possivelmente as condições estabelecidas para o tratamento térmico (temperatura e tempo) podem não ter sido adequadas, pois não promoveu mudanças significativas, não alterando a cristalinidade das camadas de óxidos de Ti.

Quanto as propriedades mecânicas, em comparação com o Ti polido, ocorreu um aumento na dureza superficial, mas não foram observadas alterações significativas no módulo de elasticidade. Através das imagens MEV das indentações não foram observadas regiões danificadas com a exposição do substrato de Ti-cp. Estes resultados revelam uma viabilidade para aplicações biomédicas através de uma compatibilidade mecânica mais adequada para com os ossos. Entretanto não foi possível estabelecer uma relação entre as propriedades mecânicas e os eletrólitos utilizados, pois os perfis de dureza e de módulo de elasticidade não apresentam diferenças significativas quando comparados entre as condições de anodização utilizadas. As medidas correspondentes a superfície tem profundidade de próximo a 200 nm, que corresponde aos 10% da espessura das camadas anódicas, nessa profundidade a dispersão é muito elevada devido a rugosidade das amostras.

Mesmo com baixa cristalinidade das fases dos óxidos de Ti foi observada a nucleação da HA nas superfícies de titânio oxidadas nas três condições das misturas dos ácidos, após os ensaios de bioatividade de 30 dias com solução SBF. Estes resultados são atribuídos ao fato de que a oxidação sob 180 V com as misturas de ácidos sulfúrico e fosfórico, possibilitou a incorporação de fostatos nas camadas e a formação de uma morfologia rugosa/porosa; favorecendo a bioatividade. Portanto, as superfícies anodizadas, independentemente das condições das misturas dos ácidos, podem ser consideradas bioativas.

Os resultados obtidos com as diferentes técnicas de caracterização (MEV, EDS, DRX, Espectroscopias micro-Raman e Infravermelho, nanoindentação) mostraram que as camadas de óxidos de Ti obtidas neste trabalho, apresentam um comportamento inerente à mistura dos ácidos sulfúrico e fosfórico; pois as três condições testadas são similares. Como também não mostram características do comportamento individual dos ácidos sulfúrico e fosfórico (seção 3.2).

A utilização das diferentes técnicas de caracterização possibilitou realizar análises detalhadas de diferentes propriedades das camadas de óxidos de Ti e de HA formada sobre estes: morfologia (MEV), química (EDS e *IV*), estrutural (DRX), vibracional (Espectroscopias micro-Raman e *IV*), mecânicas (nanoindentação).

Assim é possível afirmar que as camadas de óxidos de Ti obtidos neste trabalho apresentaram comportamentos similares, pois foi verificado que há pouca influência entre os eletrólitos utilizados nos seguintes pontos: na morfologia, incorporação do grupo fosfato, espessura, rugosidade, fases dos óxidos, dureza, módulo de elasticidade e bioatividade. Não sendo possível determinar qual camada de óxido apresenta as melhores características para aplicações em biomateriais, sendo todas igualmente adequadas.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Elaborar outras soluções eletrolíticas com a mistura de ácidos fosfórico e sulfúrico para que ambos contribuam para a oxidação da superfície do Ti-cp.
- Analisar a eficiência do tratamento térmico submetendo amostras oxidadas e sem tratamento térmico aos testes de bioatividade *in vitro* e de propriedades mecânicas.
- Realizar o tratamento térmico em diferentes temperaturas e intervalos de tempo para avaliar se favorecerem a bioatividade.
- Realizar teste de bioatividade *in vitro* utilizando diferentes soluções simuladoras de fluido corpóreo em períodos de tempo menores.
- Realizar experimentos *in vitro* com células osteoblásticas humanas para estudar a adesão e proliferação celular sobre as superfícies de óxido de titânio.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. C. Nucleação e crescimento de hidroxiapatita em titânio. Tese de doutorado. COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 1999.
- ARSOVA, I.; ARSOV, L. ; HEBESTREIT, N.; ANDERS, A.; PLIETH, W. Electrochemical formation of anodic oxide films on Nb surfaces: ellipsometric and Raman spectroscopical studies. **J Solid State Electrochem** (2007) 11: 209–214.
- AWONUSI, A., MORRIS, M. D., TECKLENBURG, M. M. J. Carbonate assignment and calibration in the Raman spectrum of apatite. **Calcified tissue international**, 81(1), (2007), 46–52.
- BALACHANDRAN, U.; EROR, N. G. Raman Spectra of Titanium Dioxide. **Journal of Solid State Chemistry** 42, 276-282 (1982)
- BERTOLUZZA, A.; BOTTURA, G.; TADDEI, P.; MORELLI, M. A. Vibrational Spectra of Controlled-Structure Hydroxyapatite Coatings Obtained by the Polymeric Route. **Journal of Raman Spectroscopy**, vol. 21, 759-764 (1996)
- BONADIO, T.G.M. Estudos dos Compósitos TiO₂-Hidroxiapatita e Nb₂O₅-Hidroxiapatita: Comportamento Físicomecânico, Estrutural e de Bioatividade. Maringá, 2011. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Física.
- BORN, R.; SCHARNWEBER, D.; RÖßLER, S.; STÖLZEL, M.; THIEME, M.; WOLF, C.; WORCH, H. Surface analysis of titanium based biomaterials. **J Anal Chem** (1998) 361 : 697–700 – 1998
- BOUZAKIS, K.-D., MICHAILIDIS, N., HADJIYIANNIS, S., SKORDARIS, G., ERKENS, G. The effect of specimen roughness and indenter tip geometry on the determination accuracy of thin hard coatings stress–strain laws by nanoindentation. **Materials Characterization**, 49(2), 149–156, (2002).
- BRYERS, J. D.; GIACHELLI, C.M.; RATNER, B. D. Engineering Biomaterials to Integrate and Heal: The Biocompatibility Paradigm Shifts. **Biotechnology and Bioengineering**, Vol. 109, No. 8, August, 2012.
- CALLISTER, W. D., **Materials Science and Engineering: an introduction**. New York: John Wiley & Sons, 2001.
- CHAVES, R. R. Obtenção e caracterização de ligas Ti-Al-Nb para uso em implantes ortopédicos. 2001. 164 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

COSTA, A. C. F. M.; LIMA, M. G. ; LIMA, L. H. M. A.; *et al.* Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.4.3 (2009) 29-38

COSTA, L.L. Aplicação de nanotubos de titânia na fotodegradação de corantes. Brasília, 2009. Tese (Doutorado), Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de Brasília.

CULLITY, B. D. **Elements of X-Ray Diffraction**, 2th ed, London:Addison-Wesley, 1978. 569p.

CUI, X.; KIM H.-M.; KAWASHITA, M. L.; XIONG, WANG, T.; KOKUBO, T.; NAKAMURA, T. Preparation of bioactive titania films on titanium metal via anodic oxidation. **Dental Materials** 25 (2009) 80-86.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C.I.; MACHADO, G. Microscopia eletrônica de varredura : aplicações e preparação de amostras : materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. – Porto Alegre : EDIPUCRS, 2007. Recurso eletrônico disponível em www.pucrs.br/edipucrs/online/microscopia.pdf . Acesso em 16/08/2012.

de SOUZA, G. B. Caracterizações Físicas, Químicas e de Bioatividade de Superfícies de Titânio Modificadas para Aplicação Biomédica. Curitiba, 2010. Tese (Doutorado), Curso de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade Federal do Paraná.

de SOUZA, G. B.; Foerster, C.E.; SILVA, S.L.R. LEPIENSKI, C.M. Nanomechanical Properties of Rough Surfaces. **Materials Research**, Vol. 9, No. 2, 159-163, 2006.

DOWNS, R T (2006). The RRUFF Project: an integrated study of the chemistry, crystallography, Raman and infrared spectroscopy of minerals. Program and Abstracts of the 19th General Meeting of the International Mineralogical Association in Kobe, Japan. O03-13. <http://rruff.info/>

DU, Y.L.; DENG, Y.; ZHANG, M.S. Variable-temperature Raman scattering study on anatase titanium dioxide nanocrystals. **Journal of Physics and Chemistry of Solids** 67 (2006) 2405–2408.

ELIAS, C.N.; VASCONCELLOS, V.S.L.; RESENDE, C.R.S. Análise dos mecanismos celulares durante a osseointegração dos implantes. Anais do 7^o COLAOB - Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais. Natal, 2013. Disponível em www.metallum.com.br/7colaob/resumos/trabalhos.../04-050.doc (acesso em 16/03/2013)

FISCHER-CRIPPS, A.C. **Handbook of Nanoindentation**. Fischer-Cripps Laboratories Pty Ltd. Austrália, 2009.

FRANCISCHONE, E.C.; VASCONCELOS, L.W. **Osseointegração e as próteses unitárias: como otimizar a estética**. São Paulo: Artes Médicas: EAP-APCD, 1998. (Série EAP-APCD; Vol.21)

FRAUCHIGER, V.M.; SCHLOTTIG, F.; GASSER, B.; TEXTOR, M. Anodic plasma-chemical treatment of CP titanium surfaces for biomedical applications. **Biomaterials** 25 (2004) 593–606.

GAMES, L. A.; SANCHEZ, A. G.; JIMENEZ-PIQUE, EMILIO, SCHREINER, W. H.; CERÉ, S. M.; BALLARRE, J. Chemical and mechanical properties of anodized cp-titanium in $\text{NH}_4 \text{H}_2\text{PO}_4/\text{NH}_4\text{F}$ media for biomedical applications. **Surface & Coatings Technology** 206 (2012) 4791–4798.

GAO, Z.; LI, Q.; HE, F.; HUANG, Y.; WAN, Y. Mechanical modulation and bioactive surface modification of porous Ti–10Mo alloy for bone implants. **Materials and Design** 42 (2012) 13–20.

GEETHA, M.; SINGH, A.K.; ASOKAMANI, R.; GOGIAA.K. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. **Progress in Materials Science** 54 (2009) 397–425

GRIGAL, I.P.; MARKEEV, A.M.; GUDKOVA, S.A.; *et al.* Correlation between bioactivity and structural properties of titanium dioxide coatings grown by atomic layer deposition. **Applied Surface Science** 258 (2012) 3415–3419.

GODLEY, R.; STAROSVETSKY, D.; GOTMAN, I. Bonelike apatite formation on niobium metal treated in aqueous Na OH. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine** 15 (2004) 1073-1077.

HANAWA, T. In vivo metallic biomaterials and surface modification. **Materials Science and Engineering A**267 (1999) 260–266

HENCH, L. L. AND ETHRIDGE, E. C. **Biomaterials: An Interfacial Approach**. Academic Press, New York. 1982.

<http://www.pemtron.com/eng/images/sem-measurement.gif>, acessado em: 08/01/13.

HOBO, S., ICHIDA, E.; GARCIA, L. **Osseointegração e Reabilitação Oclusal**. 1ªEdição, 1997. Quintessence Editora Ltda.

HU, R.; LIN, C.; SHI, H.; WANG, H. Electrochemical deposition mechanism of calcium phosphate coating in dilute Ca–P electrolyte system. **Materials Chemistry and Physics** 115 (2009) 718–723.

JAEGGI, C.; PARLINSKA-WOJTAN, M.; KERN, P. Correlation of electrolyte-derived inclusions to crystallization in the early stage of anodic oxide film growth on titanium. **Thin Solid Films** 520 (2012) 1804–1808.

JARCHO, M. Retrospective analysis of hydroxyapatite development for oral implant applications. **Dent Clin North Am.** 1992 Jan;36(1):19-26.

JCPDS - JOINT COMMITTEE ON POWDER DIFFRACTION STANDARDS. **JCPDS Powder diffraction file: 1985-1995.** International Centre for Diffraction Data: UK, 1995.

JOSÁNOVÁ, L., MÜLLER, F.A., HELEBRANT, A. *et al.* Biomimetic apatite formation on chemically treated titanium. **Biomaterials**, v. 25, 2004,pp. 1187-1194.

KAHN, H. **Análise por Difração de Raios-X.** São Paulo: USP, 2003.

KARLINSEY, R.L.; HARA, A.T.; YI, K. *et al.* Bioactivity of novel self-assembled crystalline Nb₂O₅ microstructures in simulated and human salivas. **Biomed. Mater.** 1 (2006) 16–23.

KARLINSEY, R.L.; YI, K. Self-assembly and bioactive response of a crystalline metal oxide in a simulated blood fluid. **J Mater Sci: Mater Med** (2008) 19:1349–1354

KOKUBO, T. Bioactive glass-ceramics: properties and applications. **Biomaterials**, v. 12, p. 155-163, 1991.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 27(15), 2907–15, (2006).

KOKUBO, T., MATSUSHITA, T., TAKADAMA, H., KIZUKI, T. Development of bioactive materials based on surface chemistry. **Journal of the European Ceramic Society**, 29(7), 1267–1274, 2009.

KUROMOTO, N. K., SIMÃO, R.; SOARES, G. Titanium oxide films produced on commercially pure titanium by anodic oxidation with different voltages. **Materials Characterization**, 58(2), 114–121. (2007)

LARKIN, P.J. Infrared and raman spectroscopy: principles and spectral interpretation. 239 p. Elsevier. San Diego, 2011.

LEE, J-H.; KIMB, S-E.; KIMC, Y.-J.; *et al.* Effects of microstructure of anodic titania on the formation of bioactive compounds. **Materials Chemistry and Physics** 98 (2006) 39–43.

LEPIENSKI, CM; MIKOWSKI, A.; AZEVEDO, E.C.; *et al.* Caracterização mecânica de filmes finos e superfícies modificadas em nanoescala usando indentação instrumentada - fatores limites para a aplicação da técnica. Congresso SAM/CONAMET 2007. San Nicolás, 4 al 7 Septiembre de 2007.

LI, X.; BHUSHAN, B. A review of nanoindentation continuous stiffness measurement technique and its applications. **Materials Characterization**, 48(1), (2002). 11–36.

LI, H., NG, B. S., KHOR, K. A. Raman spectroscopy determination of phases within thermal sprayed hydroxyapatite splats and subsequent in vitro dissolution examination. **Acta Materialia** 52 (2004) 445–453.

LILJA, M., GENVAD, A., ASTRAND, M., *et al.* Influence of microstructure and chemical composition of sputter deposited TiO₂ thin films on in vitro bioactivity. **Journal of materials science. Materials in medicine**, 22(12), 2727–34, 2011.

LINDBERG, F.; HEINRICHS, J.; ERICSON, F.; *et al.* Hydroxylapatite growth on single-crystal rutile substrates. **Biomaterials** 29 (2008) 3317–3323.

LIU, X., CHU, P.K., DING, C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v.47, 2004, n.24, p.49-121.

LIU, J. H.; WU, G. L.; YU, M., *et al.* Influence of incremental rate of anodising current on roughness and electrochemical corrosion of oxide film on titanium alloy Ti-10V-2Fe-3Al. **Surface Engineering**, 28(6), 406–411, (2012).

MA, H.L.; YANG, J.Y.; DAI, Y.; *et al.* Raman study of phase transformation of TiO₂ rutile single crystal irradiated by infrared to second laser. **Applied Surface Science** 253 (2007) 7497–7500.

MAHAN, B.M.; MYERS, R.J. **Química : um curso universitário**, tradução da 4ª edição americana. 582 p., Editora Edgard Blücher Ltda, 1995.

MALISKA, A. M. **Microscopia Eletrônica de Varredura e Microanálise**. 97f. Apostila. Santa Catarina. Universidade Federal de Santa Catarina (2003). Disponível em http://www.materiais.ufsc.br/lcm/web-MEV/MEV_Apostila.pdf.

MARKOVIĆ, S.; VESELINOVIĆ, L.; LUKIĆ, M.J.; *et al.* Synthetical bone-like and biological hydroxyapatites: a comparative study of crystal structure and morphology. **Biomed. Mater.** 6 (2011) 045005 (13pp).

MATSUNO, H.; YOKOYAMA, A.; WATARI, F.; *et al.* Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hafnium, niobium, tantalum and rhenium. **Biomaterials** 22 (2001) 1253 -1262

MILLER, M. *et al.* Surface Roughness Criteria for Cement Paste Nanoindentation. **Cement and Concrete Research**, v. 38, p. 467-476, 2008.

MINAGAR, S.; BERNDT, C. C.; WANG, J.; *et al.* A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces. **Acta Biomaterialia** 8 (2012) 2875–2888.

MÜLLER, L.; MÜLLER, F.A. Preparation of SBF with different HCO₃⁻ content and its influence on the composition of biomimetic apatites. **Acta Biomaterialia**, v.2, p. 181-189, 2006.

NOTINGHER, I.; BOCCACCINI, A.R.; JONES, J. V., *et al.* Application of Raman microspectroscopy to the characterisation of bioactive materials. **Materials Characterization** 49 (2003) 255– 260.

OLIVEIRA, M.V. DESENVOLVIMENTO DE REVESTIMENTO POROSO DE TITÂNIO PARA IMPLANTES CIRÚRGICOS. [Rio de Janeiro] 2003 IX, 176 p. 29,7 cm (COPPE/UFRJ, D.Sc., Engenharia Metalúrgica e de Materiais, 2003) Tese - Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE

OLIVER, W.C.; PHARR, G.M. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. **Journal of Materials Research**, 7 , pp 1564-1583 (1992).

OLIVER, W.C.; PHARR, G.M. Measurement of hardness and elastic modulus byinstrumented indentation: Advances in understanding andrefinements to methodology. **J. Mater. Res.**, Vol. 19, No. 1, Jan 2004.

OU, S.-F., LIN, C.-S., PAN, Y.-N. Formation of hydroxyapatite on low Young's modulus Ti–30Nb–1Fe–1Hf alloy via anodic oxidation and hydrothermal treatment. **Materials Science and Engineering: C**, 29(8), (2009). 2346–2354.

PARK, T-Y.; EOM, S-H.; KIM, M-D.; *et al.* Effects of Surface Morphology of Titanium Anodic-oxidized with Sulphuric Acid and Phosphoric Acid on Osteogenesis. Chapter 6. Clinical and Experimental Thesis. **OSSTEM Implant System**.(2005)

PELISSER, F.; GLEIZE, P.J.P.; MIKOWSKI, A. Propriedades nanomecânicas do silicato de cálcio hidratado de síntese. **Ambiente Construído**, Porto Alegre, v. 9, n. 42, p. 129-139, out./dez. 2009.

PENEL, G.; LEROY, G.; REY, C.; *et al.* MicroRaman Spectral Study of the PO₄ and CO₃ Vibrational Modes in Synthetic and Biological Apatites. **Calcif Tissue Int** (1998) 63:475–481

PENEL, G.; DELFOSSE, C.; DESCAMPS, M.; *et al.* Composition of bone and apatitic biomaterials as revealed by intravital Raman microspectroscopy. **Bone** 36 (2005) 893 – 901

PEERAN, W.; SRINIVASAMURTHY, K.G. **Comparison of Raman and IR Spectroscopy**. Recurso eletrônico disponível em <http://www.chemvista.org/ramanIR4.html>. Acesso em 05/11/2012

POPA, M.V.; MORENO, J.M.C.; POPA, M.; *et al.* Electrochemical deposition of bioactive coatings on Ti and Ti–6Al–4V surfaces. **Surface & Coatings Technology** 205 (2011).

PUCÁET, E.; REYNARDB, B.; LÉCUYERA, C. Can crystallinity be used to determine the degree of chemical alteration of biogenic apatites? **Chemical Geology** 205 (2004) 83– 9.

QUELHAS, K.A.S. Estudo da corrosão do nióbio em meio metanólico Tese de Doutorado. Universidade do Rio de Janeiro. . Rio de Janeiro, 2007. Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais.

RAMÍREZ, G.; RODIL, S.E.; ARZATEC, H.; *et al.* Niobium based coatings for dental implants. **Applied Surface Science** 257 (2011) 2555–2559

RATNER, B.D.; BRYANT, S.J. Biomaterials: Where We Have Been and Where We Are Going. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2004. 6:41–75.

RESENDE, C. X.; DILLE, J.; PLATT, G. M.; *et al.* Characterization of coating produced on titanium surface by a designated solution containing calcium and phosphate ions. **Materials Chemistry and Physics**, v. 109, p. 429–435, 2008.

RESENDE, L.C.N. **Interação Biológica: implante – tecido ósseo**. 1994. Editora Almed. São Paulo.

RIGO, E.C.S.; OLIVEIRA, L.C.; SANTOS, L.A.; *et al.* Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 15, n. 1-2, p. 21-29, jan/ago 1999. SBEB - Sociedade Brasileira de Engenharia Biomédica.

SABER-SAMANDARI, S.; GROSS, K. A. The use of thermal printing to control the properties of calcium phosphate deposits. **Biomaterials** 31 (2010) 6386 e 6393.

SANTOS JUNIOR, EMANUEL. Anodização de titânio comercialmente puro para aplicações biomédicas. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Rio de Janeiro (2005). Disponível em <http://teses.ufRJ.br/coppe_m/EmanuelSantosJunior.pdf>. Acesso em 22/03/11

SANTOS Jr., E., KUROMOTO, N. K., SOARES, G. Mechanical properties of titania films used as biomaterials. **Materials Chemistry and Physics**, 102(1), 92–97, (2007)

SAVIO, A. K.P.D.; STARIKOV, D.; BENSOUULA, A.; *et al.* Tunable TiO₂ (anatase and rutile) materials manufactured by mechanical means. **Ceramics International** 38 (2012) 3529–3535.

SIEBERT, F.; HILDEBRANDT, P. **Vibrational Spectroscopy in Life Science**. 2008. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. ISBN: 978-3-527-40506-0

SILVA, C. C.; THOMAZINI, D.; PINHEIRO, A. G.; *et al.* Optical properties of hydroxyapatite obtained by mechanical alloying. **Journal of Physics and Chemistry of Solids** 63 (2002) 1745-1757.

SILVA, C. C.; ROCHA, H. H. B.; FREIRE, F. N. A.; *et al.* Hydroxyapatite screen-printed thick films : optical and electrical properties, **Materials Chemistry and Physics** 92 (2005) 260–26892.

SOARES, G. D. A. Biomateriais. Fórum de Biotecnologia Biomateriais Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-graduação e Pesquisa de Engenharia Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos Ciência, Tecnologia e Inovação. Rio de Janeiro, (2005).

SOARES, P.; MIKOWSKI, A.; LEPIENSKI, C. M.; *et al.* Hardness and Elastic Modulus of TiO₂. Anodic Films Measured by Instrumented Indentation. **J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater**, v. 84B, p.524–530, 2008.

Sociedade francesa de mineralogia e cristalografia. <http://www.obs.univ-bpclermont.fr/sfmc/ramandb2/index.html>

SONG, H. J.; PARK, S. H.; JEONG, S. H.; *et al.* Surface characteristics and bioactivity of oxide films formed by anodic spark oxidation on titanium in different electrolytes. **Journal of Materials Processing Technology**, v. 209 (2009), p. 864–870.

SUL, Y.; JOHANSSON, C.B.; PETRONIS, S.; *et al.* Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: the oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure and chemical composition. **Biomaterials** 23 (2002), p.491–501.

SUL, Y.; JOHANSSON, C.B.; JEONG, Y.; *et al.* Oxidized implants and their influence on the bone response. **J Mater Sci Mater Med** 2001;12:1025–31.

SZESZ, E.M. Produção e caracterização de modificações superficiais em titânio para aplicação biomédica. Curitiba, 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. Engenharia Mecânica, área de concentração Manufatura.

TAGUE Jr., T. J. Infrared and Raman Microscopy: Complimentary or Redundant Techniques? Bruker Optics, Inc., 19 Fortune Drive, Billerica, MA 01821. **Microsc Microanal** 13 (Suppl 2), 2007

UCHIDA, M.; KIM, H.-M.; KOKUBO, T.; *et al.* Effect of water treatment on the apatite-forming ability of NaOH-treated titanium metal. **Journal of biomedical materials research**, 63(5), (2002), 522–30.

Universidade de Parma - Laboratório de efeitos vibracionais fotoinduzidos e Espectroscopia Raios-X. <http://www.fis.unipr.it/phevix/ramandb.html>

VELTEN, D., BIEHL, V., AUBERTIN, F. Preparation of TiO₂ layers on cp-Ti and Ti6Al4V by thermal and anodic oxidation and by sol-gel coating techniques and their characterization. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 59, pp. 18-28. 2002

VELTEN, D.; EISENBARTH, E.; SCHANNE, N., *et al.* Biocompatible Nb₂O₅ thin films prepared by means of the sol-gel process. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine** 15 (2004) 457-461.

WANG, X.J.; LI, Y.C.; LIN, J.G; *et al.* In vitro bioactivity evaluation of titanium and niobium metals with different surface morphologies. **Acta Biomaterialia** 4 (2008) 1530–1535

WILLIAMS, D.F. **Biofunctionality and Biocompatibility**. Materials Science and Technology – A Comprehensive Treatment – Medical and Dental Materials, 1 ed., chapter 1, Weinheim, VCH, 1992.

WU, J-M.; WANG, M. Bioactive Bioceramic Coatings: Part I. Coatings on Non-Metallic Biomaterials. **Metal Oxide Nanostructures and Their Applications**. Edited by Ahmad Umar and Yoon-Bong Hahn. Volume 4: Pages 1–28. 2010 by American Scientific Publishers. ISBN: 1-58883-170-1

YANG, B.; UCHIDA, M.; KIM, H.M.; *et al.* Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment. **Biomaterials** 2004; 25:1003–10.

YAO, C.; WEBSTER, T. J. Anodization: A Promising Nano-modification Technique for Titanium for Orthopedic Applications. **Nanotechnology for the Regeneration of Hard and Soft Tissues**. Chapter 3p.79-110. World Scientific.2007.

ZHAO, Y., XIONG, T., HUANG, W. Effect of heat treatment on bioactivity of anodic titania films. **Applied Surface Science**, 256(10), (2010). 3073–3076.

ANEXO I

OXIDAÇÃO DO TITÂNIO A 250 V

Conforme apresentado e discutido na anodização sob tensão de 180 V não foram obtidos filmes de óxido de titânio cristalino. Para verificar se a formação destas ocorre em tensão maior conduzimos ensaios de anodização sob a tensão de 250 V, mantendo-se os demais parâmetros. Segundo Liu et al. (2012) com tensões crescentes, a estrutura do óxido de muda de um filme amorfo para cristalino. A figura 37 apresenta resultados para os teste da anodização em 250V: (a) morfologia para a condição 1,0 H₂SO₄ : 0,5 H₃PO₄, (b) gráfico corrente *versus* tempo, (c) espectros Raman e (d) difração de raios-X - 2 θ .

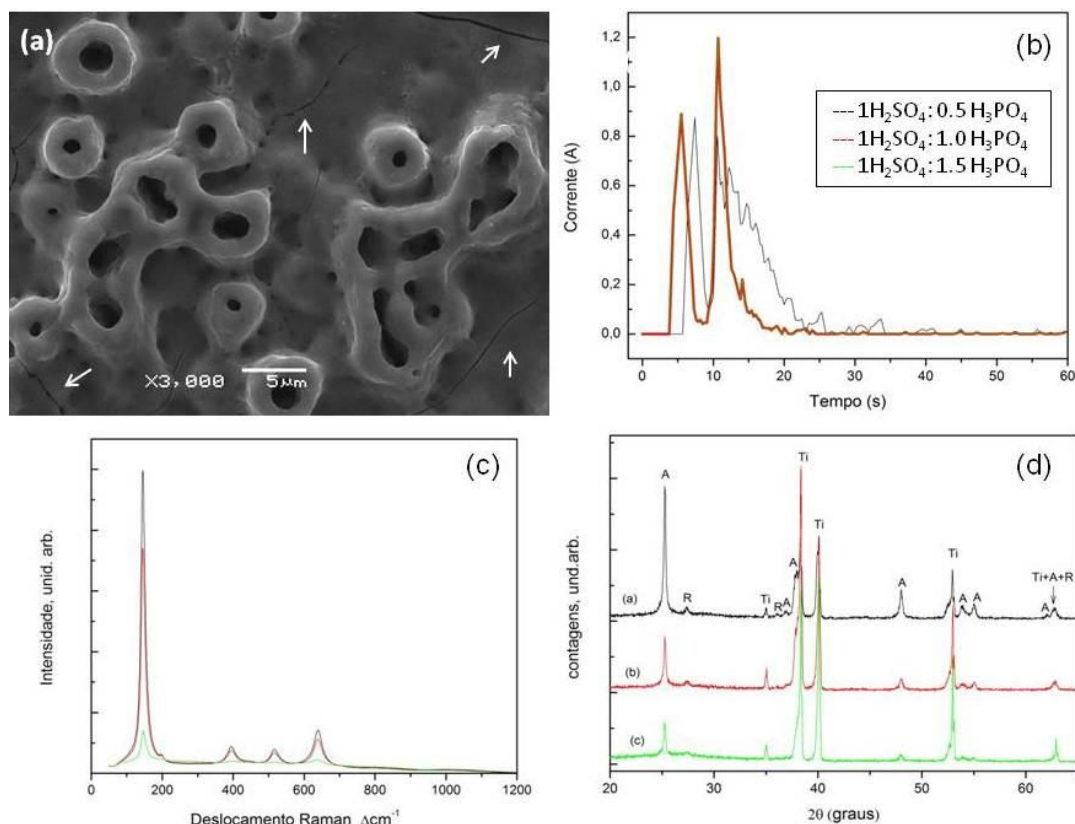


Figura 37 – Oxidação sob 250V: (a) Imagem MEV da morfologia (b) Gráfico corrente em função do tempo (b) Espectro micro-Raman para óxidos de Ti (d) Digratograma de Raio-X para óxidos de Ti.

Independente da condição das misturas dos ácidos, obteve-se a mesma morfologia, com poros homogêneos cobrindo toda a superfície, no entanto, mais espaçados quando comparados com a morfologia de poros interconectados da anodização sob 180 V. Foi observado um intenso centelhamento durante a oxidação provocando a ruptura dielétrica do filme, conforme observado na figura 37.b. A transformação cristalina está intimamente relacionada com a ruptura dielétrica do filme durante a anodização (SUL et al.,2001), o que pode ser observados nos picos nos difratogramas de difração de Raio-X (fig.37d), que apresentam o mesmo padrão da oxidação a 180V, porém com melhor definição e intensidade, indicando fases cristalinas. A espectroscopia micro-Raman apresenta assinaturas correspondentes a fase anatásio, similar a anodização sob 180 V.

Apesar da anodização a 250 V apresentar crescimento de anatásio cristalino, há a formação de trincas na superfície dos filmes em todas as três condições de oxidação, conforme as indicações das setas na figura 37a. Isto torna os filmes anódicos sob 250V inviáveis para aplicações biomédicas, devido as implicações discutida na seção 4.4.1. E a morfologia obtida em 180 V é mais favorável para a bioatividade, devido a interconecção dos poros.

ANEXO II

OXIDAÇÃO DO NIÓBIO

1 INTRODUÇÃO

O nióbio (Nb) possui propriedades físicas e mecânicas semelhantes as do titânio tais como alto ponto de fusão, boa resistência mecânica. O Nb, além de ser um material biocompatível, é um dos minérios mais abundantes no Brasil, que possui cerca de 90% das reservas mundiais. Contudo, atualmente o número de publicações nacionais e internacionais explorando a biocompatibilidade do nióbio ainda é muito menor do que a do Ti (NASCIMENTO, 2009). Pesquisas para aplicações biomédicas com o Nb metálico foram desenvolvidas por Matsuno et al., (2001), Godley et al. (2004), Karlinsey et al., (2006), Karlinsey & Yi, (2008); Wang et al. (2008). Estudos com biomateriais contendo pentóxido de Nb foram realizados por Velten et al., (2004); Nascimento (2009); Bonadio (2011) e Ramírez et al. (2011).

A afinidade do nióbio com o oxigênio possibilita a formação de uma camada fina e aderente de óxidos (NbO , NbO_2 e Nb_2O_5) em sua superfície. O pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) possui o grupo funcional Nb – OH, o que o torna promissor para o desenvolvimento de biomateriais, pois pode induzir a nucleação de HA (NASCIMENTO, 2009).

Segundo Niinomi (2003) o Nb possui propriedades adequadas (não é tóxico e alérgico, resistente à corrosão) para ser utilizado como elemento de liga para o titânio. Tais propriedades também se aplicam aos óxidos de Nb. Entretanto, pelo fato do nióbio metálico ser um material altamente reativo e com alto ponto de fusão, exige que as técnicas convencionais de produção sejam acompanhadas de sistemas sofisticados para altas temperaturas e controle de atmosfera, o que eleva o custo de produção. Por outro lado, o pentóxido de nióbio pode ser sinterizado em atmosfera livre e também em menores temperaturas, o que viabiliza o uso de Nb_2O_5 em biocompósitos (NASCIMENTO, 2009).

Conforme Soares (2005) apesar de o Ti e suas ligas, e Co-Cr-Mo serem matérias primas mais indicadas para a fabricação próteses permanentes, estas apresentam a desvantagem de serem importadas e caras. Por este motivo, no Brasil, os produtos fabricados são em sua maioria de aço inoxidável, principalmente com o aço 316L.

O Nb possui densidade elevada ($8,6 \text{ gcm}^{-3}$) quando comparada com a do Ti ($4,5 \text{ gcm}^{-3}$), entretanto os valores não se tornam discrepantes quando comparados como do aço 316L, que é $8,0 \text{ gcm}^{-3}$ (RUSSEL, 1.929).

Desta forma, o Nb pode ser uma alternativa de matéria prima para o uso em biomateriais, seja como metal puro, elemento de liga para o Ti ou com os óxidos de Nb para a produção de biocompósitos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas placas de Nióbio nas dimensões de (15,0 x 10,0 x 1,5) mm. Inicialmente foram preparadas seguindo o mesmo procedimento das amostras de titânio, porém foram necessárias modificações em diferentes etapas da preparação das amostras, sendo elas:

1) o nióbio reage muito rápido com a água, assim o lixamento foi realizado sem a utilização de água com lixas de carbetto de silício de granulometria 600, 800, 2000 obtendo-se uma superfície uniforme e especular.

2) conforme Quelhas, (2007) o nióbio reage com ácido em altas temperaturas, a temperatura ambiente obtém apenas o efeito de eletrocromismo. O nióbio reage facilmente temperatura baixas (ambiente) com compostos com radical -OH, ácido fluorídrico e soluções salinas. Assim foram testadas as condições:

a) NaOH 65 V 30 s e 60V 120 s

b) H_3PO_4 + HF 1% 250 V 120 s

c) Na_2SO_4 100 V 60s

Todos os eletrólitos com 1M e a tensão foi testada em diferentes valores até se observar centelhamento, são apresentados apenas o resultados dos testes em que estes ocorreram.

3) o tratamento térmico a 600°C forma uma camada espessa de Nb_2O_5 em toda a amostra, mas esta se desprende facilmente do filme. Na figura 38 é possível verificar que o Nb_2O_5 (cor branca) não está bem aderido a superfície do substrato Nb, sendo observado o seu desprendimento.



Figura 38 - Desprendimento do filme da oxidação e camada de Nb_2O_5

Analisando o diagrama de fase do nióbio e após testes em diferentes temperaturas, verificou-se que independente do eletrólito utilizado quando o tratamento térmico é realizado em 450°C/1h a camada de Nb_2O_5 , proveniente do tratamento térmico, fica bem aderida a superfície do Nb.

A oxidação do nióbio apresentou-se extremamente sensível a pequenas modificações nos parâmetros de anodização, como a distância entre amostra de Nb e o contra eletrodo de platina, e alterações pequenas nos valores de tensão. Não são descritos estes parâmetros e resultados.

3 RESULTADOS

3.1 Caracterização do Nb

A caracterização do Nb foi realizada através da análise DRX, a figura 39 mostra contribuições do substrato Nb e óxidos (NbO , NbO_2).

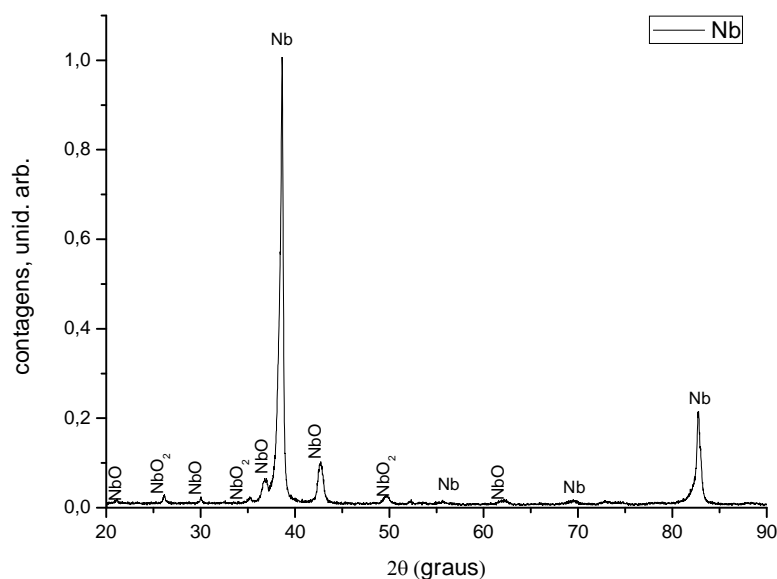


Figura 39 - DRX do Nióbio metálico

3.2 ELETRÓLITO NaOH

Para a oxidação com eletrólito NaOH 1M, com tensão de 65 V obteve-se um filme de cor cinza, enquanto que a 60V exibiu o fenômeno de eletrocromismo com uma coloração roxa. A figura 40 mostra a imagem por MEV e o respectivo EDS para a condição de oxidação com o eletrólito NaOH/65V. Ocorreu a incorporação de sódio no filme anódico, o que poderia favorecer a bioatividade. Entretanto, o filme possui muitas trincas, por isto não se prosseguiu maiores investigações nesta condição de anodização.

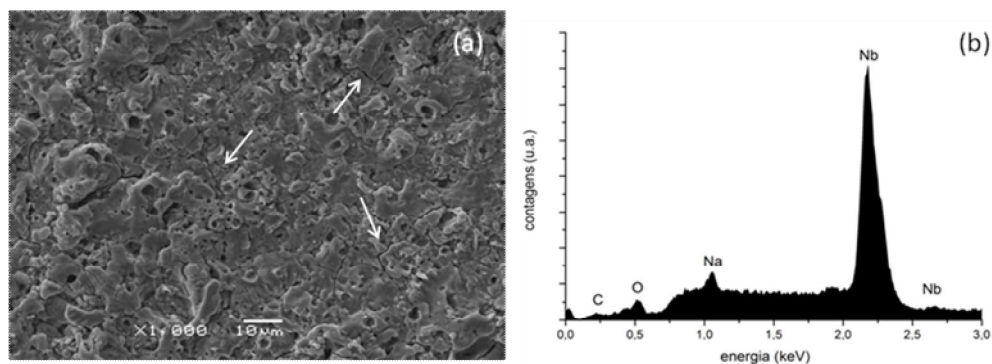


Figura 40 - Oxidação do Nb com eletrólito NaOH (a) morfologia com magnificação 1.000x (b) EDS do filme anódico

3.3 ELETRÓLITO H_3PO_4 + HF 1%

A oxidação do Nb com eletrólito H_3PO_4 + HF 1% sob 250 V e durante 120 s obteve-se um filme de cor cinza, após o tratamento térmico cresceu com boa aderência sobre toda a amostra o Nb_2O_5 . A figura 41 mostra a morfologia observada por MEV. Entretanto após o tratamento térmico surgiram trincas no filme anódico, o que inviabiliza este filme para aplicações biomédicas. É apresentado apenas o EDS (fig. 41c) para a amostra tratada termicamente, mas ambas as condições (antes e após tratamento térmico) tiveram o mesmo comportamento, incorporaram fósforo no filme.

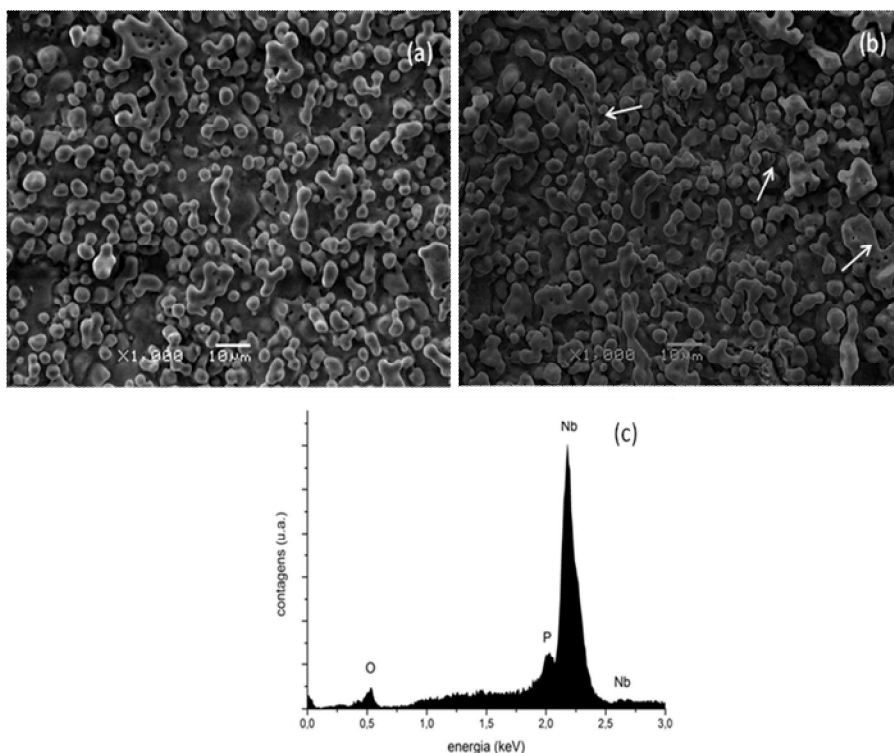


Figura 41 - (a) Oxidação do Nb com eletrólito H_3PO_4 + HF 1% (b) Oxidação e tratamento térmico do Nb com eletrólito H_3PO_4 + HF 1%, as setas indicam trincas e ruptura no filme (c) EDS do filme anódico

3.4 ELETRÓLITO Na_2SO_4

Para a oxidação com o eletrólito Na_2SO_4 sob 100 V durante 60s obteve-se um filme de cor branca, após o tratamento térmico cresceu com boa aderência sobre toda a amostra o Nb_2O_5 . A figura 42 mostra a imagem por

MEV e o respectivo EDS para a condição de oxidação com o eletrólito Na_2SO_4 , estes resultados são semelhantes aos obtidos para o eletrólito $\text{NaOH}/65\text{V}$. Sobre o filme ocorreu a incorporação de sódio e a presença de muitas trincas (o que inviabiliza sua aplicação em biomateriais).

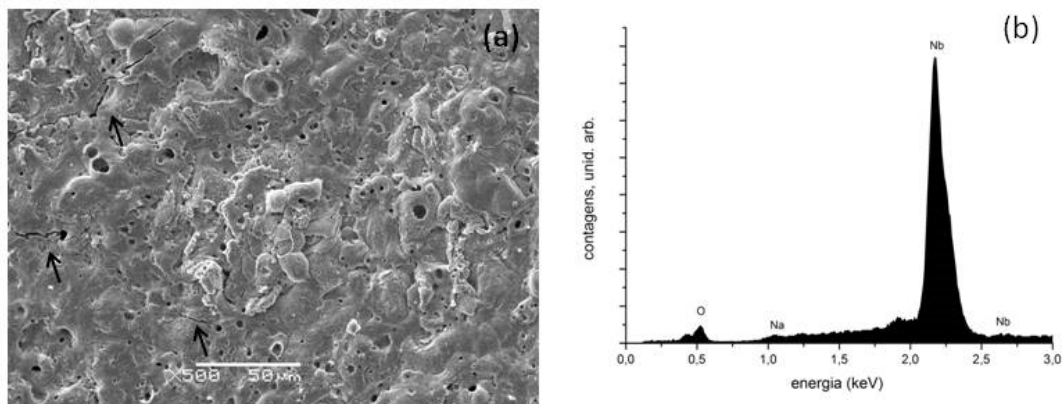


Figura 42 - oxidação TT 450°C com Na_2SO_4 (a) morfologia aumento 500x (b) morfologia aumento 1000x, as setas indicam trincas e ruptura no filme

Para esta condição a caracterização da camada de óxido formada após o tratamento térmico foi realizada por análises DRX (geometria θ - 2θ e rasante com $\theta = 1.5^\circ$) e Espectroscopia micro-Raman.

As figuras 43 e 44 mostram os resultados da DRX, indicando que o filme de óxido formado sobre o Nb é espesso, há apenas um pico referente ao substrato e os demais se referem ao óxidos (NbO , NbO_2 e Nb_2O_5). Picos referente a estes óxidos também foram observados no espectro micro-Raman (figura 45).

Os picos do espectros micro-Raman da figura 45 foram identificados através de comparação com o trabalho de Arsova, *et al* (2007). Alguns picos não foram identificados, devido a literatura apresentar poucos trabalhos utilizando o espectroscopia Raman para identificar os óxidos de Nb. As bases de dados utilizadas para identificação dos óxidos de Ti e HA também não apresentam arquivos dos óxidos de Nb.

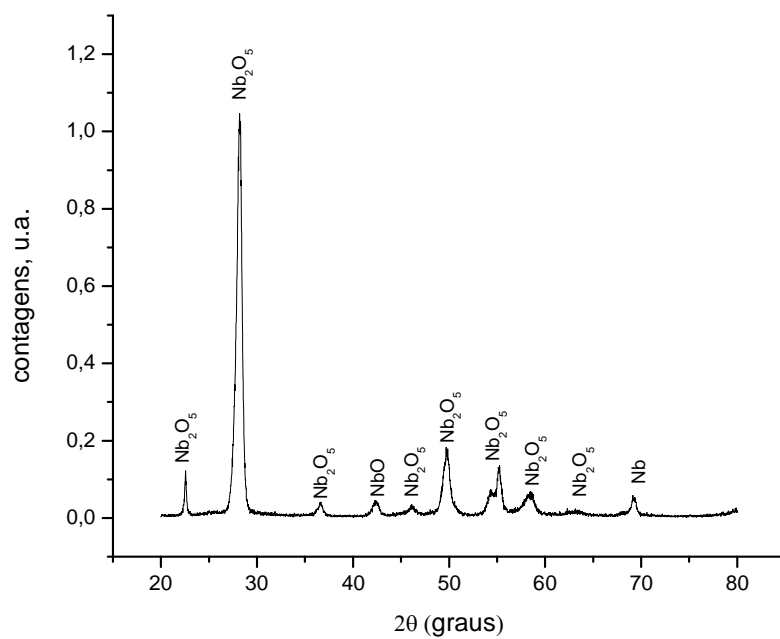


Figura 43 - Difratoograma de Raio-X (θ - 2θ) do filme de óxido sobre o substrato Nb

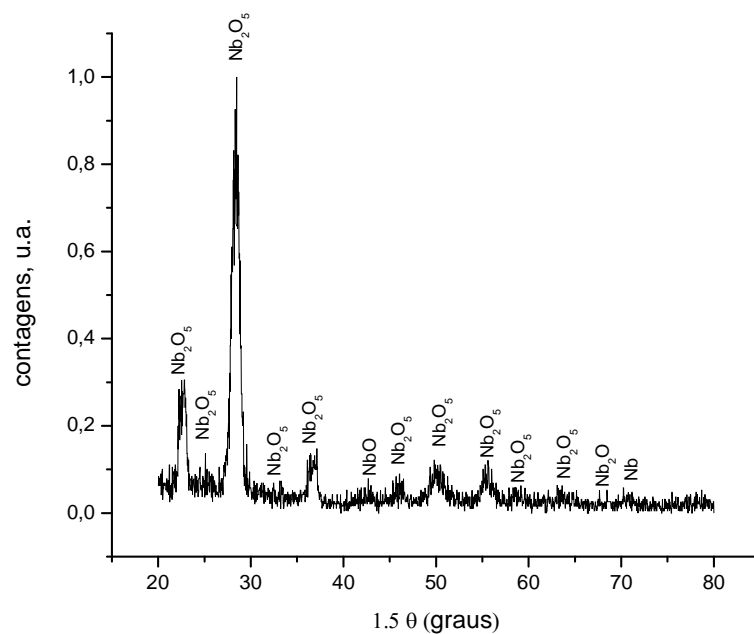


Figura 44 - Difratoograma de Raio-X (rasante $\theta = 1,5^\circ$) do filme de óxido sobre o substrato Nb

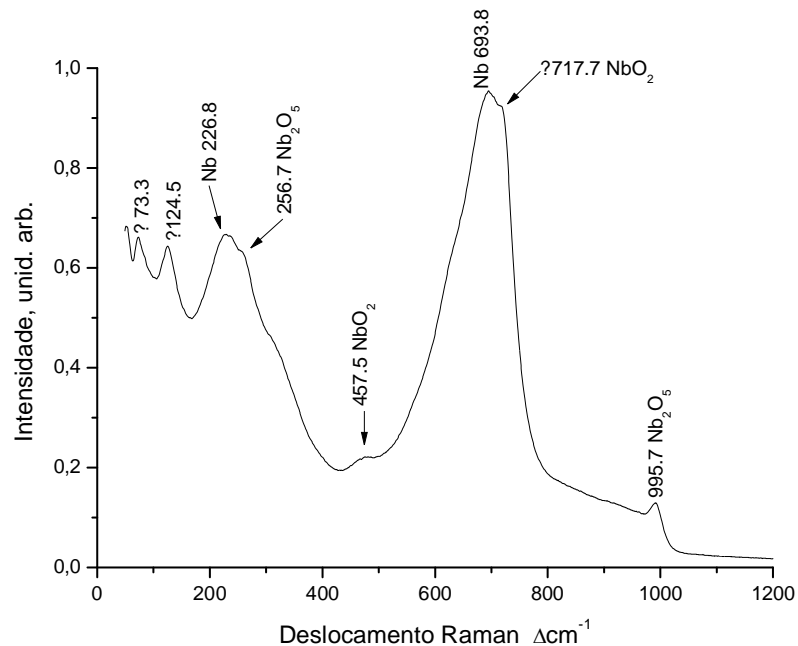


Figura 45 - Espectro micro-Raman do filme de óxido sobre o substrato Nb

4 CONCLUSÕES

Resende (1994) relata que o Nb é um metal de difícil usinagem e preparo para aplicações em biomateriais, o que foi observado neste estudo preliminar da anodização do Nb com diferentes eletrólitos.

Maiores investigações devem ser conduzidas para viabilizar a oxidação em superfícies de Nb, pois nenhuma das condições analisadas neste trabalho se apresentou favorável para a aplicação em biomateriais.

ANEXO III

APRESENTAÇÃO EM CONGRESSO

LUZ, A.R.; FOERSTER, C. E.; KUROMOTO, N.K. Bioatividade em superfícies de titânio reagidas anodicamente. 7º COLAOB - Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais. Natal-RN, 2012.